SPEKTRALPHOTOMETRISCHE UND BIOLOGISCHE UNTERSUCHUNGEN AN EISEN(III)- UND KUPFER(II)-AMINOHYDROXAMATO-KOMPLEXEN

Inaugural-Dissertation
zur Erlangung des akademischen Grades eines
Doktors der Naturwissenschaften
der Mathematisch-Naturwissenschaftlichen Fakultät
der Universität des Saarlandes

vorgelegt von
WALTER MENNICKE
aus Völklingen/Saar

Saarbrücken 1969

SPEKTRALPHOTOMETRISCHE UND BIOLOGISCHE UNTERSUCHUNGEN AN EISEN(III)- UND KUPFER(II)-AMINOHYDROXAMATO-KOMPLEXEN

Inaugural-Dissertation
zur Erlangung des akademischen Grades eines
Doktors der Naturwissenschaften
der Mathematisch-Naturwissenschaftlichen Fakultät
der Universität des Saarlandes

vorgelegt von
WALTER MENNICKE
aus Völklingen/Saar

Saarbrücken 1969

UNIV.
LEIDEN
BIBL.

Tag der mündlichen Prüfung: 24. JUNI 1969

Der Dekan: Prof.Dr.H.-D.Dietze

Berichterstatter: Prof.Dr.H.-J.Bielig

Prof.Dr.F.Seel

Die vorliegenden Untersuchungen wurden im Institut für Biochemie der Universität des Saarlandes, Saarbrücken, unter Leitung von Herrn Professor Dr.H.-J.BIELIG in der Zeit von April 1965 bis Dezember 1968 durchgeführt und durch die STIFTUNG VOLKSWAGENWERK gefördert.

Meinem verehrten Lehrer, Herrn Professor Dr.H.-J.BIELIG, danke ich für Themenstellung und wohlwollende Förderung, Herrn Dr.G.ROHNS für zahlreiche Anregungen und Diskussionen.

Für die großzügige Unterstützung bei den im Institut für Pharmakologie und Toxikologie der Universität des Saarlandes, Homburg/Saar, durchgeführten radioaktiven Untersuchungen habe ich dessen Direktor, Herrn Professor Dr.W.RUMMEL, sowie Herrn Priv.-Doz.Dr.W.FORTH und Fräulein H.ANDRES herzlichst zu danken.

Herrn Oberkustos Dipl.-Phys. H.MARTIN vom Institut für Angewandte Mathematik (Dir.: Prof.Dr.J.DÖRR) sei für Aufstellung eines Rechen-Programms bestens gedankt.

INHALTSVERZEICHNIS

Seite

I. ZUSAMMENFASSUNG DER ERGEBNISSE 1
II. THEORETISCHER TEIL 4
A. Konstitution und Funktion natürlich vorkommender und synthetischer Hydroxamsäuren sowie ihrer Eisen(III)-Komplexe 4
1) Einführung 4
2) Siderochrome 4
a) Sideramine und Sideromycine 4
b) Vorkommen in Mikroorganismen 4
c) Konstitution 6
d) Wuchsstoff- und Hemmstoff-Wirkungen 10
3) Weitere Hydroxamsäuren aus Mikroorganismen 10
4) Hydroxamsäuren aus Pflanzen 13
5) Biologische Funktionen synthetischer Hydroxamsäuren .. 14
a) Beeinflussung des Bakterienwachstums und Antivirus-Aktivität 14
b) Reaktivierung von Enzymen 14
6) Verhalten von Desferrioxamin B und einfachen Hydroxamsäuren gegenüber Eisen im menschlichen und tierischen Organismus 14
B. Problemstellungen dieser Arbeit 15
1) Geplante Untersuchungen an Aminohydroxamato-eisen-Komplexen 15
2) Geplante Untersuchungen an Hydroxamato-kupfer-Komplexen 16
C. Komplex-Bildung von Aminohydroxamsäuren mit Eisen(III)-Ionen 17
1) Bisherige Untersuchungen über Hydroxamato-eisen(III)-Komplexe 17
2) Komplex-Typen und deren spektrales Verhalten 18
3) Sonderstellung der Histidinhydroxamato-eisen(III)-Komplexe 23
4) Thermodynamische Stabilitätskonstanten 26
a) Grundlagen des verwendeten Bestimmungsverfahrens 26
b) pK_a-Werte der Liganden 27
c) log K- und log ß-Werte der Eisen(III)-Komplexe 29
5) Kinetik des Eisenaustausches bei Aminohydroxamato-eisen(III)-Komplexen 31

Seite

6) Verhalten von Hydroxamato-eisen(III)-Komplexen als biologische Eisen-Donatoren 34
D. Komplex-Bildung von Aminohydroxamsäuren mit Kupfer-Ionen 38
1) Bisherige Untersuchungen 38
2) Bildung, Elektronenspektren und Zusammensetzung von Hydroxamato-kupfer(II)-Komplexen 38
a) Vorbemerkungen 38
b) Komplextypen bei aliphatischen und heteroalicyclischen Aminohydroxamsäuren 39
c) Komplextypen bei aromatischen und heteroaromatischen Aminohydroxamsäuren 46
3) Verhalten von Aminohydroxamsäuren gegenüber einwertigem Kupfer 51
E. Diskussion der Ergebnisse 52
1) Eisen(III)-Komplexe und ihr biologisches Verhalten 52
a) Elektronenspektren und Ligandenfeld 52
b) Thermodynamische Stabilität 54
c) Kinetische Stabilität 57
d) Eisendonator-Wirkungen 59
2) Kupfer-Komplexe 61
a) Cu(II)-Komplexe 61
b) Cu(I)- und Fe(II)-Komplexe 73
c) Vergleich der Kupferkomplexe von α-Aminohydroxamsäuren mit Hämocyanin und Coeruloplasmin 73
III. EXPERIMENTELLER TEIL 75
A. Geräte und allgemeine Meßverfahren 75
1) Spektrophotometrische Verfahren 75
2) pH-Messungen 75
3) Radiochemische Verfahren 75
B. Ausgangsverbindungen 76
1) Hydroxamsäuren 76
a) Darstellung 76
b) Dünnschichtchromatographie 78
c) UV-Spektren 79
d) Ermittlung der pK_a-Werte 79
2) Bereitung der Metallsalz-Lösungen 82
C. Untersuchungen der Eisen(III)-Komplexe 82
1) Bestimmung der λ_{max}-Werte verschiedener Komplextypen .. 82

Seite

2) Ermittlung der Zusammensetzung eines Histidinhydroxamato-eisen(III)-Komplexes nach der Geraden-Methode .. 83
3) Prüfung der Gültigkeit des Lambert-Beerschen Gesetzes bei schwerlöslichen 3:1-Komplexen 83
4) Bestimmung der Stabilitätskonstanten 84
a) Ermittlung der pH-abhängigen Extinktionen 84
b) Meß- und Rechendaten 85
5) Kinetische Untersuchungen am System Trihydroxamato-eisen(III)/Transferrin 90
a) Darstellung der Hydroxamato-eisen(III)-Komplexe 90
b) Transferrin-Präparat 90
c) Spektrophotometrische Verfolgung des Eisen-Austauschs 90
D. Untersuchung der Kupferkomplexe von Hydroxamsäuren ... 91
1) Bestimmung der Zusammensetzung 91
a) Lösliche 1:1-Komplexe 91
b) Schwerlösliche 1:1-Komplexe 92
c) 2:1-Komplexe 93
2) Darstellung schwerlöslicher Kupfer(II)-Komplexe 95
3) pH-Titrationen 96
a) Glycinhydroxamsäure als Ligand 96
b) Pyrrolidon-(5)-α-carboyl-hydroxamsäure als Ligand .. 96
c) m-Amino-benzhydroxamsäure als Ligand 96
4) Reaktion von Kupfer(I)-Salzen mit Aminohydroxamsäuren 97
E. Eisendonator-Wirkung von Hydroxamato-eisen(III)-Komplexen bei Ratten 97
1) Ausgangsverbindungen und ^{59}Fe-Markierung 97
2) Tiermaterial, Verabreichung der Komplexe und Aufbereitung 97
3) Auswertung der Aktivitätsmessungen 98
IV. LITERATURVERZEICHNIS 105

I. ZUSAMMENFASSUNG DER ERGEBNISSE

1) Ausgehend von biologisch wirksamen, natürlich vorkommenden Hydroxamsäuren und deren Eisen(III)-Komplexen (S. 4 - 13) wird die Komplexbildung von einfachen Hydroxamsäuren, die zusätzlichen Stickstoff (als NH_2, -NH-CO-, Hetero-N) tragen (S. 15), mit Eisen(III)-Ionen bei verschiedenen pH-Werten näher untersucht. Zum Vergleich ist das Verhalten gegenüber Kupfer(II)-Ionen studiert worden. Die Ermittlung der Zusammensetzung solcher Komplexe sowie ihre thermodynamische und kinetische Stabilität bilden die Grundlage für das Verständnis ihrer physiologischen Aktivität als Eisen- bzw. Kupfer-Donatoren bei Säugetieren.

2) Eisen(III)-Komplexe: Aufgrund der pH-Abhängigkeit der Elektronenspektren im sichtbaren Spektralbereich werden anhand der beiden isosbestischen Punkte drei im Gleichgewicht stehende Komplextypen nachgewiesen (Abb. 1a-c, S. 19-20). Ihre pH-Stabilitätsbereiche werden festgestellt. Die hypsochrome Verschiebung des charakteristischen Absorptionsmaximums mit steigendem pH-Wert wird als weitgehend unabhängig von der N-Substitution des Liganden erkannt (Tab.3, S.22). Unterschiede in der Lage von λ_{max} bei 3:1- und besonders bei 1:1-Komplexen, die außer anorganischen Liganden eine Protonierung am zusätzlichen Stickstoff der Organoliganden aufweisen können, werden auf Änderungen des Ligandenfeldes zurückgeführt (S. 52 f.). Die Sonderstellung der Histidinhydroxamsäure, die bei pH >6 einen blauen 2:1-Komplex mit zwei Maxima (Abb.2, S.23) bildet, bei pH 3.5 aber einen roten 1:1-Komplex (Abb.3, S.24, Ermittlung der Zusammensetzung in Abb. 4, S.24), wird erkannt und mit Iminobenzhydroxamsäure als Liganden für Fe(III) verglichen (S.54).

Aus den Extinktionswerten bei beliebiger Wellenlänge unter Berücksichtigung der z.T. eigens bestimmten pK_a-Werte der Liganden (Tab. 4, S.29) werden die thermodynamischen Stabilitätskonstanten (K_I - K_{III}) und die Stabilitätsprodukte (ß-Werte) für die verschiedenen Hydroxamato-eisen(III)-Komplexe nach MATTOO ermittelt (Tab.5, S.30). Sie werden durch Berücksichtigung des Zerfalls von $[Fe(OH)]^{2+}$ korrigiert (Tab.6, S.31) und mit Werten verglichen, die SCHWARZENBACH und HOWSMON bei den Eisen(III)-Komplexen einiger Hydroxamsäuren ohne zusätzlichen

Stickstoff auf potentiometrischem Wege erhalten haben (Tab.10, S.55). Die thermodynamische Stabilität der Aminohydroxamato-eisen(III)-1:1-Komplexe (log β_1 = 9.6 - 11.0) entspricht etwa derjenigen von Glycinato- und Acetylacetonato-eisen(III), diejenige der 3:1-Komplexe (log β_3 = 21.5 - 25.6) etwa derjenigen vom Citrato- und EDTA-eisen(III) (Tab. 11, S.57). Die zusätzliche Stickstoff-Funktion (Acet-/α-Aminoacet- bzw. Benz-/Aminobenz-hydroxamato-Komplexe) wirkt sich nicht entscheidend auf die thermodynamische Stabilität aus.

Die studierte, biologisch interessierende Geschwindigkeit des Eisen-Austauschs zwischen Tris-[aminohydroxamato]-eisen(III)-Komplexen und Transferrin, dem Eisen(III)-Transportprotein im Säugetierblut, ergibt (Abb.7, S.35), verglichen mit den analog von SALTMAN erhaltenen Austauschgeschwindigkeiten der ähnlich thermodynamisch stabilen Fe(III)-Komplexe mit anderen Organoliganden folgende Reihe kinetischer Stabilität (t = Zeit des totalen Fe-Austauschs): [Hydroxo-aquo-nitrilotriacetato]-eisen(III)-Dianion (t = 5 sec, log ß = 20), Tris-[o-amino-benzhydroxamato]-eisen(III) (t = 21 Min., log β_3 = 25), [Dihydroxo-aquo-citrato]-eisen(III)-Dianion (t = 20 Stdn., log ß = 25), EDTA-eisen(III)-Monoanion (t/2 = 4 Tage, log ß = 31), Ferrioxamin B ($t \gg 7$ Stdn., log ß = 31). Sterische Einflüsse erscheinen hierfür vorwiegend bestimmend.

In Fortsetzung früherer Versuche wird gefunden, daß Tris-[aminohydroxamato]-eisen(III)-Komplexe als biologische Eisen-Donatoren für den Häm-Aufbau geeignet sind. Die Organ-Verteilung der mit radioaktivem ^{59}Fe markierten Verbindungen zeigt (Tab.8, S.35, Tab.12, S.60), daß 1 Stde. nach intravenöser Verabreichung an Ratten noch 34% der Gesamtaktivität im Serum, am 7.Tage aber bereits bis 64% in den Erythrocyten gefunden werden. Die Hydrolyse-Stabilität ist hoch (geringe $^{59}FeOOH$-Werte in der Leber). Der Histidinhydroxamato-eisen(III)-Komplex, dessen Verhalten in Abhängigkeit vom Ligandenüberschuß studiert wurde (Tab.9, S.36), wird offenbar primär in der Muskulatur gespeichert.

3) Kupfer(II)-Komplexe: Aminohydroxamsäuren bilden, wie Acet- und Benzhydroxamsäure, pH-abhängige, grüne bis braune 1:1-Komplexe, die z.T. in wäßrigen Systemen schwerlöslich sind. Mit Ausnahme von Anthranilhydroxamsäure geben sie ferner violette oder gelbgrüne 2:1-Komplexe (Abb.8, S.40, Tab.13, S.62). Die Zusammensetzung der löslichen und der schwerlöslichen Komplexe (Abb.9, S.41) wird mit geeigneten Methoden (S.39) bestimmt. Anhand der Bruttozusammensetzung und der IR-Spektren schwerlöslicher Komplexe, dem Verlauf der pH-Titrationen, den Elektronenspektren, auch im UV-Bereich (Tab.14, S.63), und weiteren Kriterien lassen sich folgende Bautypen wahrscheinlich machen: a) [Di-μ-aquo-bis-α-ammonium-acethydroxamato]-kupfer(II)-sulfat (S. 64), [Di-μ-aquo-bis-hippurhydroxamato]-kupfer(II) (S.66) und analog gebaute 1:1-Komplexe von Kupfer(II) mit Hydroxamsäuren ohne α-Aminogruppe (S.69).- b) Anthranilhydroxamsäure bildet nur 1:1-Komplexe. Im sauren Bereich entsteht ein blaugrüner (dimerer) Aquo-Komplex mit Koordinationsbeteiligung der ortho-ständigen NH_2-Gruppe. Er geht bei Eliminierung von zwei Protonen in einen braunen (dimeren) Hydroxo-Komplex über, an dessen Bildung offenbar nur die Hydroxamato-Donorgruppen beteiligt sind (S. 71).- c) Diglycinhydroxamato-kupfer(II), violett bei pH 6 mit Beteiligung der α-NH_2-Gruppe an der Koordination, rot bei pH > 9 (S.64).- d) Di-[pyrrolidon-(5)-α-carboyl-hydroxamato]-kupfer(II)-Dianion (λ_{max} = 600 nm, bei pH 9.6) und -kupfer(II)-Tetraanion (λ_{max} = 568 nm, bei pH 11.2), wovon letzteres den Biuret-Verbindungen ähnelt (S.67).- e) Den gelbgrünen 2:1-Komplexen von Acet-, Benz-, m- bzw. p-Amino-benz- und Nicotinhydroxamsäure liegt ein komplexes Anion zugrunde, bei dem das Kupfer nur über Sauerstoff als Donor-Atom gebunden erscheint (S.68).

Kupfer(I)-Komplexe von Aminohydroxamsäuren oder Desferrioxamin B sind nicht faßbar; sie disproportionieren zu entsprechenden Kupfer(II)-Komplexen und metallischem Kupfer (S. 51).

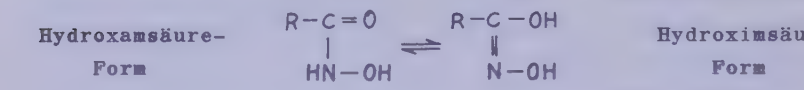
Der Vergleich der Kupfer-Komplexe von Glycin- und Pyrrolidon-(5)-α-carboyl-hydroxamsäure mit den Kupferproteiden Hämocyanin und Coeruloplasmin lehrt (S.73f.), daß Hydroxamato-Gruppen nicht Teil des Metall-Bindungszentrums sein werden, wie dies für Transferrino-di-eisen-dihydrogencarbonat offenbar der Fall ist (vgl.S.32).

II. THEORETISCHER TEIL

A. Konstitution und Funktion natürlich vorkommender und synthetischer Hydroxamsäuren sowie ihrer Eisen(III)-Komplexe

1) Einführung

Im Jahre 1869 setzte H.LOSSEN[1] Oxalsäure-diäthylester mit Hydroxylamin um und erschloß damit eine neue Klasse organischer Verbindungen, die er Hydroxamsäuren nannte. Diesen liegt folgende Struktur zugrunde[2]:



1872 fand W.LOSSEN[3], daß Hydroxamsäuren mit Eisen(III)-Ionen eine charakteristische rote Farbreaktion geben.

Eine natürlich vorkommende Hydroxamsäure, die Aspergillsäure, wurde erstmals 1947 von DUTCHER[4,5] im Kulturfiltrat von Aspergillus flavus entdeckt. Im gleichen Jahr fanden WAKSMAN und Mitarbeiter[6,7] im Grisein aus Streptomyces griseus, das sich später als Gemisch erwies[8], die ersten natürlich vorliegenden Trishydroxamato-eisen(III)-Komplexe.

2) Siderochrome

a) Sideramine und Sideromycine

Grisein und das ihm verwandte Albomycin[9] gehören zu einer großen Gruppe von Eisen(III)-Komplexen, die bei Mikroorganismen und Pflanzen weit verbreitet sind. Sie weisen als Liganden Hydroxamatopeptide (sog. Desferriverbindungen) auf, wurden insbesondere von Schweizer Forschern[10,11] bearbeitet und Siderochrome genannt. Aufgrund ihrer biologischen Eigenschaften unterteilte man diese in Sideramine mit Wuchsstoff- und Sideromycine mit antibiotischen Eigenschaften.

b) Vorkommen in Mikroorganismen

Die Sideramine konnten bisher nur aus Mikroorganismen rein erhalten werden.

Aus Actinomyceten (Strahlenpilzen) der Gattungen Streptomyces, Nocardia, Micromonospora und Streptosphorangium wurden die Ferrioxamine A_1, A_2, B, C, D_1, D_2, E, F und G isoliert. Die Hauptkomponente ist meist Ferrioxamin B, manchmal auch Ferrioxamin E.

Aspergillaceae (Schimmelpilze) lieferten die in Tabelle 1 zusammengestellten Sideramine.

In einigen Bakterien (z.B.Arthrobacter pascens) kommt der ebenfalls hierzu gehörende Terregens-Faktor vor[12].

Tabelle 1. Rein dargestellte Sideramine aus niederen Pilzen

Pilz-Art	Sideramin-Hauptkomponente
Ustilago sphaerogena BURILL ex ELIS et EVERH.	Ferrichrom
Aspergillus niger v.TIEGHEM	Ferrichrom
Penicillium resticulosum BIRKINSHAW	Ferrichrom
Aspergillus fumigatus FRESENIUS	Ferricrocin
A.humicola CHAUDHURI et SACHAV	Ferricrocin
A.versicolor (VUILL.) TIRABOSHI	Ferricrocin + Ferrirhodin
A.nidulans (EIDAM) WINTER in RABH.	Ferricrocin + Ferrirhodin
A.melleus YUKAWA	Ferrichrysin
A.terreus THOM in TURESSON	Ferrichrysin
Penicillium variable SOPP	Ferrirubin
Spicaria sp.	Ferrirubin
Paecilomyces varioti BAINIER	Ferrirubin
Penicillium urticae BAINIER	Coprogen
P.notatum WESTLING	Coprogen
P.camemberti THOM	Coprogen
P.chrysogenum THOM	Coprogen
P. sp. aus Citrinum series THOM	Coprogen
Neurospora crassa SHEAR et B.O.DODGE	Coprogen
Fusarium cubense SMITH	Fusigen

Sideramin-Aktivitäten[13] wurden auch in Algen (Chlamydomonas), in Phanerogamen (Blütenpflanzen), z.B. Solanum lycopersicum (Tomate), Rhoeo discolor, und ferner in der Leber von Säugetieren nachgewiesen.

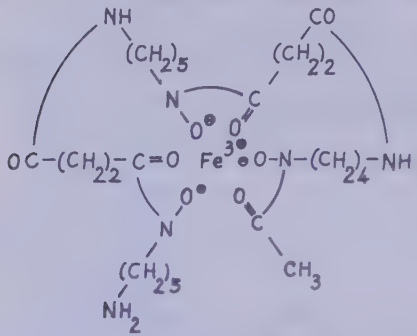
Die Sideromycine wurden bisher nur in Actinomyceten-Kulturen gefunden (Tabelle 2).

Tabelle 2. Sideromycine von Actinomyceten

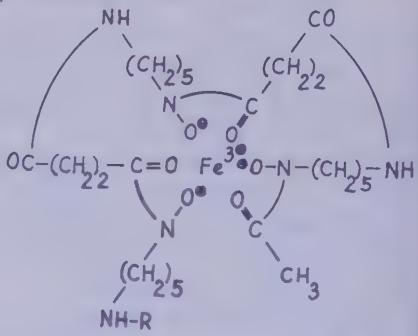
Stamm	Art	Sideromycin
G-25	Streptomyces griseus WAKSMAN et HENRICI	Grisein
	Actinomyces subtropicus	Albomycin
IA-1787	ähnlich Str. griseus	Grisein ähnlich
ETH 9578	Str.griseoflavus (KRAINSKY) WAKSMAN et HENRICI	Ferrimycine
ETH 15311	Str.griseoflavus	Ferrimycine
ETH 14677	Str.lavendulae (WAKSMAN et CURTIS) WAKSMAN et HENRICI	Ferrimycine
ETH 21510	Str.lavendulae	Ferrimycine
ETH 18822	Str.galilaeus ETTLINGER et al.	Ferrimycine
ETH 22083	Str.aureofaciens DUGGAR	Succinimycin
ETH 22765	Str.aureofaciens	Succinimycin
ETH 22931	Str.aureofaciens	Succinimycin
	Str.olivochromogenes(WAKSMAN) WAKSMAN et HENRICI	Succinimycin
LA 5352	Str.sp.	Antibioticum LA 5352
LA 5937	Str.sp.	Antibioticum LA 5937

c) Konstitution

Nach ihrem Verhalten gegenüber Säuren und Basen lassen sich die Sideramine vom Ferrioxamin-Typ in drei Gruppen einteilen: Die Ferrioxamine A_1, A_2, B, C und F sind Basen, die Ferrioxamine D_1, D_2 und E verhalten sich neutral, während Ferrioxamin G amphoter ist[14,15]. Diese ionischen, octaedrischen Eisen(III)-Komplexe enthalten als charakteristischen Baustein 1-Amino-ω-hydroxy-aminoalkane, $H_2N(CH_2)_nNHOH$, wie die nachstehenden Formeln, deren räumlicher Bau hier nicht berücksichtigt ist, zeigen.



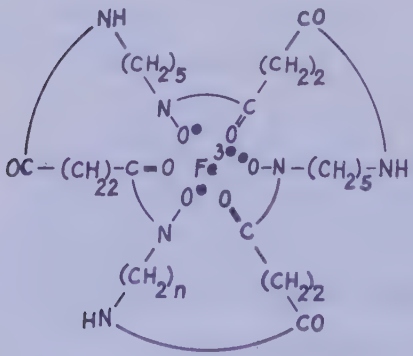
Ferrioxamin A_1 [16]



R = H: Ferrioxamin B [17,19]

$R = CH_3CO$: Ferrioxamin D_1 [18,19]

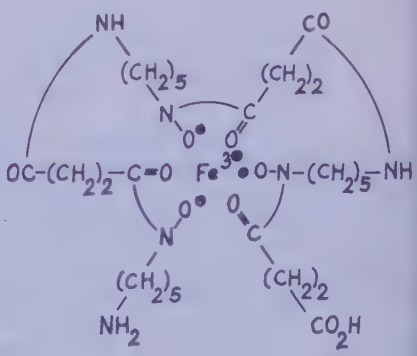
Ferrioxamin A_2 [16] hat als basische Bausteine unbekannter Reihenfolge: zwei 1-Amino-4-hydroxy-aminobutane und ein 1-Amino-5-hydroxy-aminopentan



n = 4: Ferrioxamin D_2 [16]

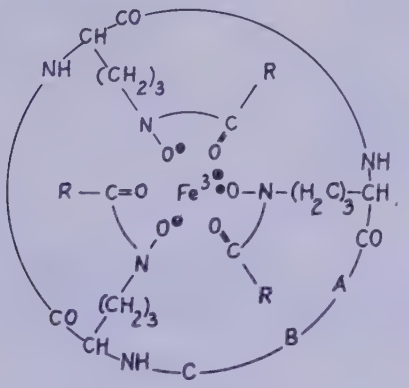
n = 5: Ferrioxamin E [20,22]

Nocardamin = Desferri-ferrioxamin E [20]

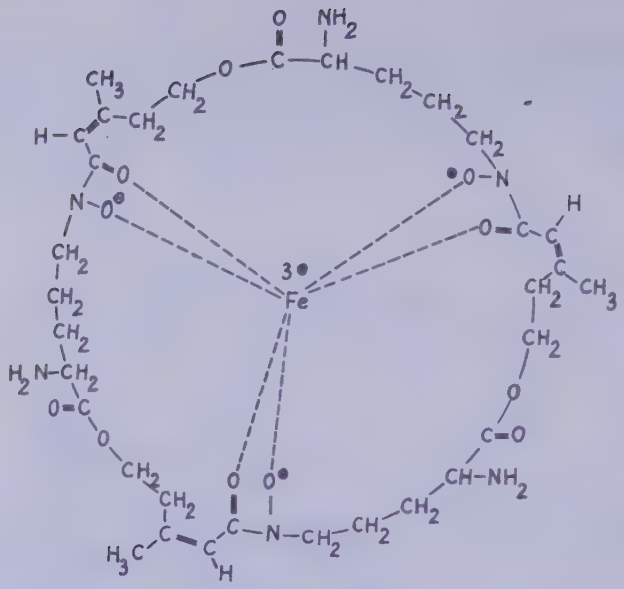


Ferrioxamin G [15,22]

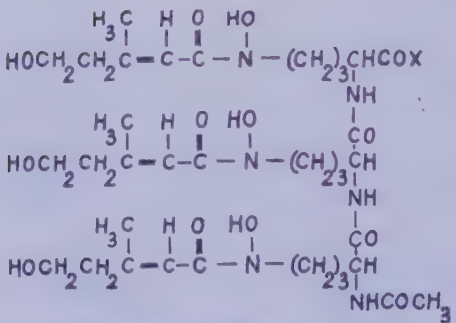
Der gemeinsame Baustein der nachstehend formulierten Sideramine aus Pilzen (Ferrichrome und verwandte Verbindungen, Fusigen und Coprogen) ist das N^{δ}-Hydroxy-ornithin. Weiter finden sich entweder Aminosäuren oder cis- bzw. trans-5-Hydroxy-3-methyl-penten-(2)-säure. Die Liganden liegen hier als Hydroxamatogruppen-tragende Cyclopeptide vor, während sie bei den Ferrioxaminen meist linear angeordnet sind.



I	$R = CH_3$	A = B = C = Gly	Ferrichrom [23-25]
I	$R = CH_3$	A, B, C = 2 Gly, 1 Ser	Ferricrocin [26]
III	$R = CH_3$	A = B = Ser, C = Gly	Ferrichrysin [26,27]
IV	$R = HOCH_2-H_2C-C(CH_3)=CH$	A = B = Ser, C = Gly	Ferrirubin [27]
V	$R = HOCH_2-H_2C-C(CH_3)=CH$	A = B = Ser, C = Gly	Ferrirhodin [27]
VI	$R = HO_2C-H_2C-C(CH_3)=CH$	A = B = Ser, C = Gly	Ferrichrom A [27,28]



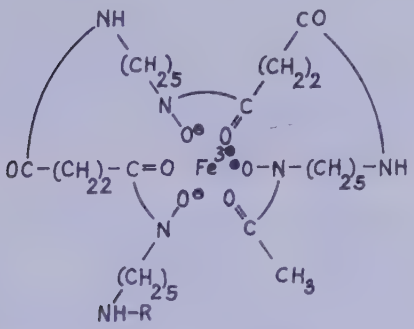
Fusigen [29,30]



Desferri-coprogen
(Strukturvorschlag) [11]

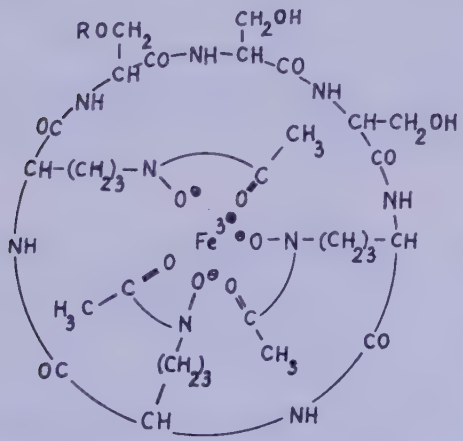
Von den Sideromycinen wurden bisher das Ferrimycin A_1 und das δ_2-Albomycin genauer untersucht. Von Succinimycin ist nur bekannt, daß es bei der Hydrolyse Bernsteinsäure und 1-Amino-5-hydroxy-aminopentan liefert [31].

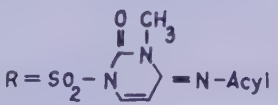
Aus dem Ferrimycin-Gemisch ließen sich eine Hauptkomponente A_1 und zwei Nebenkomponenten (A_2, B) abtrennen. Der ermittelten Konstitution von Ferrimycin A_1[32], einem Acyl-Derivat des Ferrioxamins B, ähnelt die Komponente A_2, während der Bau von Ferrimycin B noch nicht genau bekannt ist[33].



Ferrimycin A_1 [32]

Auch Albomycin erwies sich als Gemisch mehrerer Komponenten, von denen das δ_2-Albomycin die biologisch aktive Verbindung ist, während die übrigen Komponenten Umwandlungsprodukte sind[34].





δ_2 - Albomycin [35,36]

d) Wuchsstoff- und Hemmstoff-Wirkungen[11)]

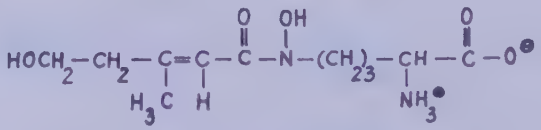
Das Grisein- bzw. Albomycin-Gemisch bewirkt bereits bei subcutanen Gaben von etwa 0.2 mg/kg Maus totalen Schutz gegen gram-positive und gram-negative Bakterien. Sie wirken auch in vitro bei entsprechend geringen Konzentrationen bakteriostatisch. Ferrimycine und Succinimycin haben eine analoge Wirkung fast nur auf gram-positive Bakterien. Alle Sideromycine erzeugen aber sehr schnell Resistenz. Sie haben sich zudem als kompetitive Antagonisten der Sideramine erwiesen: Auch hohe Konzentrationen an Sideromycinen lassen sich durch einen Überschuß an Sideraminen in ihrer Wirkung aufheben.

Die große Verbreitung der Sideramin-Wuchsstoffe und die Hemmung des bakteriellen Wachstums durch ihre Antagonisten, die Sideromycine, deuten darauf hin, daß die Sideramine essentielle Bestandteile für den mikrobiellen Stoffwechsel sind, wobei der Eisen-Gehalt wahrscheinlich eine wesentliche Rolle spielt. NEILANDS[37)] vermutet, daß die Sideramine die Aufnahme und den Transport des Eisens durch die Zellmembran gewährleisten. Weitere Beobachtungen sprechen dafür, daß das Sideramin-Eisen auch für die Häm-Synthese Bedeutung hat.

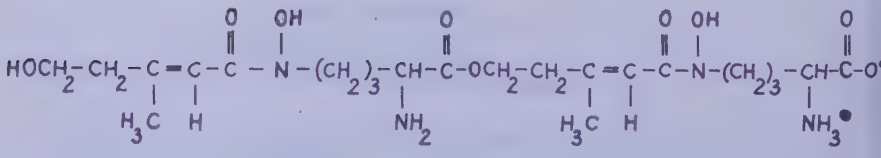
3) Weitere Hydroxamsäuren aus Mikroorganismen

EMERY[38)] isolierte aus einer Fusarium-Art das Fusarinin, welches wahrscheinlich eine Vorstufe von Ferrichrom-Verbindungen ist. SAYER und EMERY[39)] berichteten über die Isolierung Oligomerer von Fusarinin aus Fusarium roseum (Stamm ATCC 12822), die sie Fusarinin A, B und C nannten. Diese zeigten schwache Wuchsstoffeigenschaften auf Arthrobacter JG 9.

Fusarinin B besteht aus drei Fusarinin-Einheiten, während Fusarinin C wahrscheinlich die cyclische Form von Fusarinin B ist. Durch milde Hydrolyse erhält man aus Fusarinin A und B das Fusarinin.

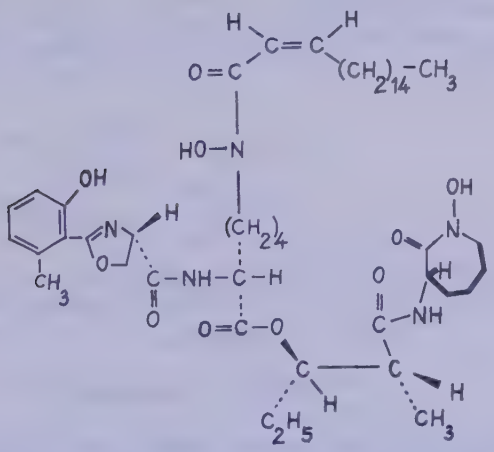


Fusarinin [38)]

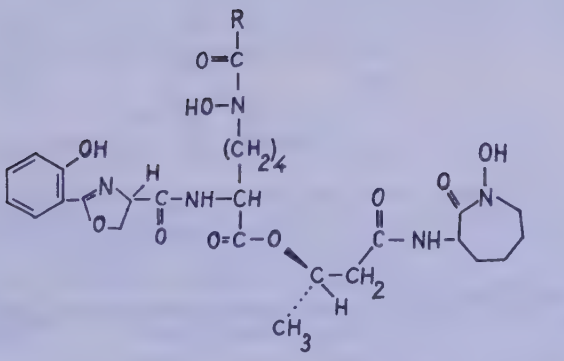


Fusarinin A [39)]

Aus Mycobacterium phlei LEHMANN et NEUMANN gewannen FRANCIS und Mitarbeiter[40] das Mycobactin (später Mycobactin P genannt[41], eine den Sideraminen nahestehende Substanz. SNOW[42] erhielt dann aus Mycobacterium tuberculosis LEHMANN et NEUMANN eine verwandte Verbindung als Eisen(III)-Komplex, das Mycobactin T[43], welches sich als ein Gemisch aus vier verwandten Komponenten erwies.



Mycobactin P [41]

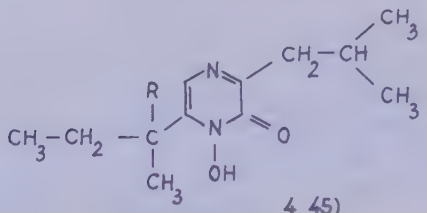


R = Alkyl-Ketten C_{14} – C_{21}

Mycobactin T [43]

Die N-Atome der Hydroxamsäure-Gruppen gehören zu N^{ε}-Hydroxy lysin-Resten, die den N^{δ}-Hydroxy-ornithin-Resten der Sideramine aus Pilzen entsprechen. Da die Mycobactine nur zwei Hydroxamsäu re-Gruppen enthalten, werden die fünfte und sechste Eisen-Bin= dung durch die phenolische Hydroxygruppe in Verbindung mit dem Hetero-Stickstoff bewirkt, so daß wieder ein stabiler 1:1-Ei= sen(III)-Großring-Komplex entsteht. Entsprechend den verwandten Sideraminen haben die Mycobactine Wuchsstoffwirkung.

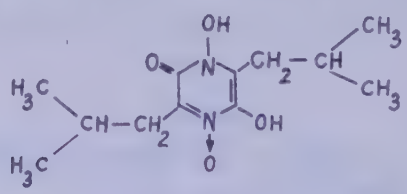
Die Aspergillsäure, das bereits erwähnte Stoffwechselproduk von Aspergillus flavus[4,5]), besitzt dagegen antibiotische Eigen schaften. Sehr oft wird sie von der Hydroxy-aspergillsäure[44]) begleitet.



a) R = H : Aspergillsäure [4, 45])

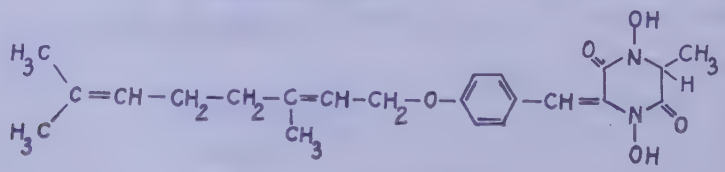
b) R = OH: Hydroxy-aspergillsäure [44])

Verwandt mit der Aspergillsäure ist das Pulcherrimin, ein Fe-haltiges Pigment aus der Hefe Candida pulcherrima[46]). Die farblose Desferri-Verbindung heißt Pulcherriminsäure. Durch die Hydroxamato-Gruppe und durch die der N-Oxid-Gruppierung benach- barte Enol-Gruppe vermag die Pulcherriminsäure zwei Atome Fe pr Mol zu binden, was zu einem vernetzten Eisen(III)-Komplex führt



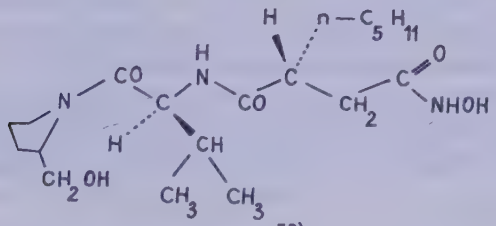
Pulcherriminsäure [47,48])

Ebenfalls in diese Gruppe gehört das Mycelinamid aus dem Mycel von Penicillium griseofulvum[49]).



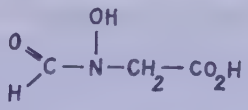
Mycelinamid [49,50])

Auch dem aus einer Actinomyceten-Kultur isolierten Antibiotikum Actinonin[51] wird die Konstitution einer Hydroxamsäure zugeschrieben[52].



Actinonin [52]

Das vom Penicillium frequentans herrührende Hadacin[53] interessiert wegen seiner Tumor-hemmenden Wirkung.

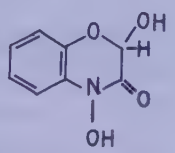


Hadacin [53]

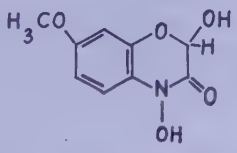
Bacillus megetarium (Stamm ATCC 19 213) scheidet Schizokinen aus, das in der Lage ist, die bakterielle Zellteilung einzuleiten[54]. Es wurde als Eisen(III)-Komplex isoliert, der ein Wuchsstoff für Arthrobacter JG 9 ist. Da das Schizokinen ein Monohydroxamat zu sein scheint, sollte der 3:1-Komplex vorliegen.

4) Hydroxamsäuren aus Pflanzen

In höheren Pflanzen scheinen Hydroxamsäuren nicht sehr verbreitet zu sein. Bisher konnten nur in Keimlingen von Mais, Weizen[55] und Roggen[56,57] cyclische Hydroxamsäuren, die als Glucoside vorliegen, nachgewiesen bzw. isoliert werden. Es wird angenommen, daß diese Dihydrobenzoxazin-Derivate, deren C-ständiges Hydroxyl glucosidiert ist, Schutzstoffe gegen Getreiderost sind[58].



2,4-Dihydroxy-1,4(2H)-benzoxazin-3-on [56]



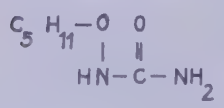
2,4-Dihydroxy-7-methoxy 1,4(2H)-benzoxazin-3-on [55]

5) Biologische Funktionen synthetischer Hydroxamsäuren

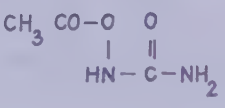
a) Beeinflussung des Bakterienwachstums und Antivirus-Aktivität

Die von GALE[59] untersuchte Oxamylhydroxamsäure erwies sich ebenso wie das Acetoxyoxamid[60] als Hemmstoff gram-negativer Bakterien (Escherichia coli, Pseudomonas, Proteus, Aerobacter, Paracolobactrum und Mycobakterien), während gram-positive Bakterien oder niedere Pilze nicht betroffen werden. Die Wirkung besteht offenbar in einer Beeinflussung der DNS-Synthese, was an Tumorzellen beobachtet wurde[59].

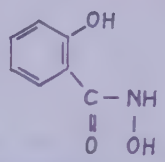
Damit parallel geht eine bei Oxamylhydroxamsäure, Acetoxyoxamid und Salicylhydroxamsäure beobachtete Antivirus-Aktivität[61], die sich z.B. darin zeigt, daß die Reproduktion des Bakteriophagen T_4 in Escherichia coli verhindert wird.



Oxamylhydroxamsäure



Acetoxyoxamid



Salicylhydroxamsäure

b) Reaktivierung von Enzymen

Organische Fluorphosphorsäure-Derivate (z.B. Sarin, der Isopropylester der Methylfluorphosphonsäure), die als Nervengifte bekannt sind, reagieren mit aktiven Gruppen von Enzymen unter anderem zu Organophosphorsäure-estern oder -amiden und blockieren dadurch das aktive Enzym-Zentrum. In-vitro-Versuche haben nun gezeigt, daß z.B. so vergiftetes Chymotrypsin nach Zugabe von Picolin- oder Salicylhydroxamsäure[62] sowie durch Glycin-, Nicotin-, Benz- und andere einfache Hydroxamsäuren[63] seine volle Aktivität zurückerlangt. EPSTEIN und FREEMAN[64] wiesen an weißen Mäusen nach, daß solche Hydroxamsäuren auch in vivo als Schutzmittel gegen das Nervengas Sarin wirken können.

6) Verhalten von Desferrioxamin B und einfachen Hydroxamsäuren gegenüber Eisen im menschlichen und tierischen Organismus

Durch Untersuchungen von SCHWARZENBACH und Mitarbeitern ist bekannt, daß Desferrioxamin B für Eisen(III)-Ionen[65] ein starkes, für andere Metall-Ionen[66] dagegen ein schwaches Komplexbindungsvermögen besitzt. Diese Spezifität erlaubt die therapeutische Anwendung als Eisen-Eliminator im menschlichen Organismus bei Eisenspeicherkrankheiten (Hämochromatosen)[67,68]. Bei längerer Behandlung mit Desferrioxamin B wird zunehmend komplex gebundenes Eisen im Urin ausgeschieden.

Anders verhalten sich dagegen einfache Hydroxamsäuren. Wie WÖHLER[69] gezeigt hat, erhöhen diese zwar den Gehalt an Serumeisen; es werden aber keine nennenswerten Mengen des mobilisierten Eisens ausgeschieden. Nach eingehenden Untersuchungen von RUMMEL und Mitarbeitern[70-73] geben die Eisen(III)-Komplexe einfacher, ein zusätzliches N-Atom enthaltender Hydroxamsäuren [z.B. Trinicotinhydroxamato-eisen(III)] nach oraler oder intravenöser Verabreichung das Eisen bevorzugt an das Knochenmark ab, wo es in Protoporphyrin eingebaut wird und dann als Hämoglobin in den Erythrocyten erscheint.

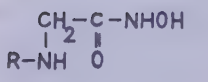
B. Problemstellungen dieser Arbeit

1) Geplante Untersuchungen an Aminohydroxamato-eisen-Komplexen

Wie aus dem voranstehenden Abschnitt hervorgeht, verhalten sich die Eisen(III)-Komplexe einfacher Hydroxamsäuren bei Säugetieren als Eisen-Donatoren. Nach oraler Applikation passieren diese Komplexe im Magen einen stark sauren Bereich und gelangen im Darm in ein schwach alkalisches Milieu. Bei intravenöser Injektion befinden sie sich dagegen in einem angenähert neutralen Bereich. Es interessierte daher zu erfahren, welche Komplex-Typen bei den verschiedenen pH-Werten bevorzugt sind und welche Zusammenhänge zwischen der thermodynamischen bzw. kinetischen Stabilität und der physiologischen Aktivität (Fe-Transport, -Organverteilung und -Donatorwirkung) bestehen. Diese Untersuchungen waren ein Gegenstand der vorliegenden Arbeit.

Als Liganden für Eisen(III) sollten "Aminohydroxamsäuren" dienen, die sich im Charakter des zusätzlichen N-Atoms unterschieden: 1) Vorliegen einer Aminogruppe, die sich an einem aliphatischen C-Atom befindet (Glycinhydroxamsäure).- 2) Die Aminogruppe an einem aliphatischen C-Atom ist acyliert (Hippurhydroxamsäure).- 3) Die Aminogruppe ist Substituent an einem Benzolkern (o-, m- und p-Amino-benzhydroxamsäure).- 4) Der zusätzliche Stickstoff ist Bestandteil eines gesättigten Ringes [Pyrrolidon-(5)-α-carboyl-hydroxamsäure].- 5) Das zusätzliche N-Atom befindet sich in einem aromatischen Sechsring (Nicotinhydroxamsäure).- 6) Außer einer Aminogruppe am aliphatischen C-Atom sind zwei N-Atome in einem Fünfring vorhanden (Histidinhydroxamsäure).

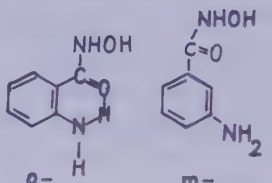
Zum Vergleich sollten Acet- und Benzhydroxamsäure, die unsubstituierten Analoga der Glycin- bzw. Aminobenzhydroxamsäuren, in die Untersuchungen einbezogen werden.



R=H : Glycinhydroxamsäure

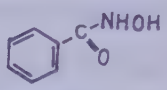
R=CO-C_6H_5 : Hippurhydroxamsäure

Grundkörper: Acethydroxamsäure

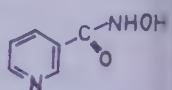


o- m- p-

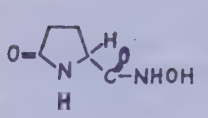
Amino-benzhydroxamsäure



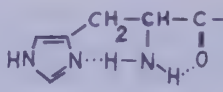
Grundkörper: Benzhydroxamsäure



Pyridoyl-(3)- = Nicotinhydroxamsäure



Pyrrolidon-(5)-α-carboyl-hydroxamsäure



D,L-Histidin-hydroxamsäure

2) Geplante Untersuchungen an Hydroxamato-kupfer-Komplexen

Über die Reaktion von Kupfer(II)-Ionen mit Hydroxamsäuren ist nur bekannt[74], daß dabei eine charakteristische Grünfärbung auftritt. Von Aminohydroxamsäuren kennt man grüne und violette Komplexe[75]. Ihre pH-abhängige Bildung, Zusammensetzung und thermodynamische Stabilität ist nur unvollkommen oder gar nicht geklärt. Kupfer(I)-Komplexe von Hydroxamsäuren sind meines Wissens bisher überhaupt nicht bearbeitet worden. Es erschien daher angebracht, das Verhalten von Kupfer(I)- und Kupfer(II)-Ionen gegenüber einfachen Hydroxamsäuren und solchen, die ein zusätzliches, in verschiedener Art gebundenes N-Atom (vgl.S.15) enthalten, näher zu untersuchen und Vergleiche mit den Eisen(II bzw. III)-Komplexen anzustreben.

Diese Untersuchungen sollten zugleich die Grundlage für das Studium der Aufnahme und Verteilung von Kupfer-Komplexen bei Mikroorganismen, niederen und höheren Tieren bilden. Obwohl zahlreiche natürliche Kupferproteide existieren, ist man über den Kupferstoffwechsel, der letztlich zum Einbau des 1- oder 2-wertigen Metalls in den Proteinverband führt, nur recht unvollkommen orientiert.

Weiterhin bestehen über die Bindungsart des Biometalls Kupfer bei Kupferproteiden noch viele Unklarheiten. Dies trifft sowohl für das Cu(I)-enthaltende, nicht zellgebundene, Sauerstoff-übertragende Hämocyanin[13] wirbelloser Tiere zu als auch für die bei Wirbeltieren verbreiteten Kupfer(II)-proteide (Coeruloplasmin im Serum, Erythro-, Hepato- sowie Cerebrocuprein in Zellen)[13], ferner für Azurin und Plastocyanin[13], die sich in Bakterien (Bordetella- oder Pseudomonas-Arten) bzw. in pflanzlichen Chloroplasten[13] finden und schließlich für Kupfer-enthaltende Enzyme[76], die ihre oxydatische Wirkung dem Wertigkeitswechsel Cu(II)/Cu(I) verdanken. Es erschien daher interessant zu erfahren, ob Hydroxamato-Gruppen für die Kupfer-Bindung in Kupferproteiden diskutiert werden können.

C. Komplex-Bildung von Aminohydroxamsäuren mit Eisen(III)-Ionen

1) Bisherige Untersuchungen über Hydroxamato-eisen(III)-Komplexe

Bereits WERNER[77] hatte die Zusammensetzung des Neutralkomplexes der Benzhydroxamsäure mit Eisen(III)-Ionen zu 3:1 angegeben. WEINLAND und BAIER[78] haben dann kationische und anionische Eisen(III)-Komplexe der Benzhydroxamsäure mit koordinativ gebundenem Pyridin bzw. Chinolin aufgefunden. Aufgrund des spektralen Verhaltens formulierten BAYER und REUTHER[79] sowohl den neutralen, rotbraunen 3:1-Komplex als auch je einen kirschroten kationischen bzw. einen rotvioletten anionischen 2:1-Komplex. HOWSMON[80] bestimmte die thermodynamischen Stabilitätskonstanten einiger Hydroxamato-eisen(III)-Komplexe potentiometrisch in Dioxan/Wasser, während SCHWARZENBACH[65] entsprechende Untersuchungen am System Eisen(III)/Acet- bzw. Benzhydroxamsäure in wäßrigen Lösungen ausführte (vgl. S. 14).

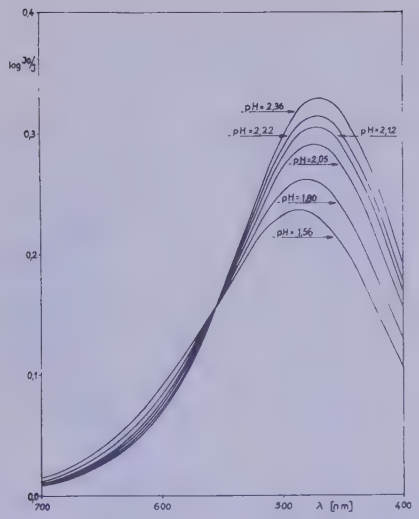
BIELIG und Mitarbeiter[75,81] nahmen sich dann der verschiedenen Eisen(III)-Komplexe von aromatischen und aliphatischen Aminohydroxamsäuren erstmals an. Sie isolierten das Trianthranilhydroxamato- und Trinicotinhydroxamato-eisen(III), prüften das Verhalten von Fe(III)-Ionen gegenüber Glycin- bzw. Pyrrolidon-(5)-α-carboyl-hydroxamsäure in Abhängigkeit vom pH-Wert und bestimmten die Zusammensetzung von 1:1-, 2:1- und 3:1-Komplex in Lösung nach der Methode der kontinuierlichen Variation von JOB[82]. Weiterhin wurden die thermodynamischen Stabilitätskonstanten einiger solcher Eisen(III)-Komplexe ermittelt. In der eigenen Diplomarbeit[83] sind die spektralphotometrischen Untersuchungen auf die Anthranil- und die Leucinhydroxamsäure ausgedehnt worden. Mit den bisher verwendeten Methoden war es jedoch nicht möglich, die einzelnen Stufen der Komplexbildung sicher zu erfassen.

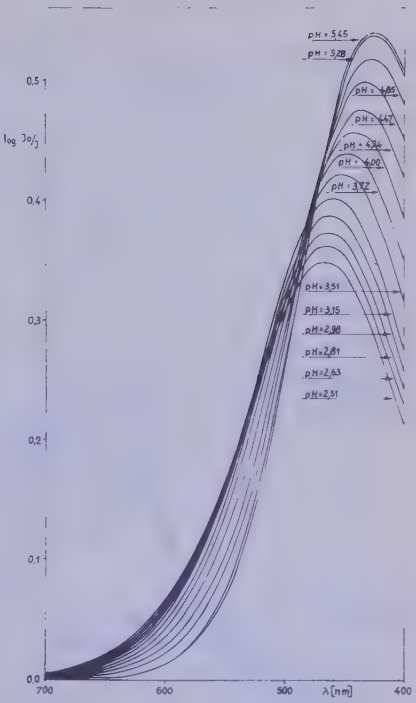
2) Komplex-Typen und deren spektrales Verhalten

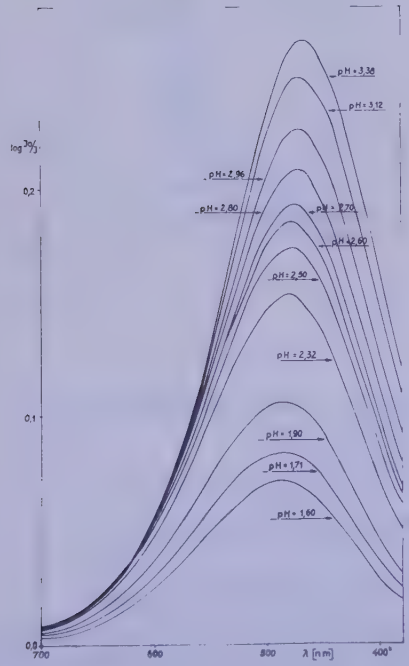
Nimmt man die Elektronenspektren dreier konstitutionell verwandter Hydroxamsäuren, nämlich Acethydroxamsäure, ihres α-Amino-Substitutionsproduktes (Glycinhydroxamsäure) und dessen N-Benzoyl-Verbindung (Hippurhydroxamsäure), bei Gegenwart von Fe(III)-Ionen (Eisenperchlorat) in Abhängigkeit vom pH-Wert auf, so erhält man die in Abbildung 1 wiedergegebenen Absorptionskurven. In allen drei Fällen, wobei ein möglicher Komplexzerfall durch einen 30fach molaren Ligandenüberschuß ausgeschlossen wurde, findet man zwei isosbestische Punkte, was zeigt, daß die früher (s.oben) nachgewiesenen drei Fe(III)-Komplextypen, d.h. 1:1- und 2:1-Komplex einerseits sowie 2:1- und 3:1-Komplex andererseits, miteinander im Gleichgewicht vorliegen.

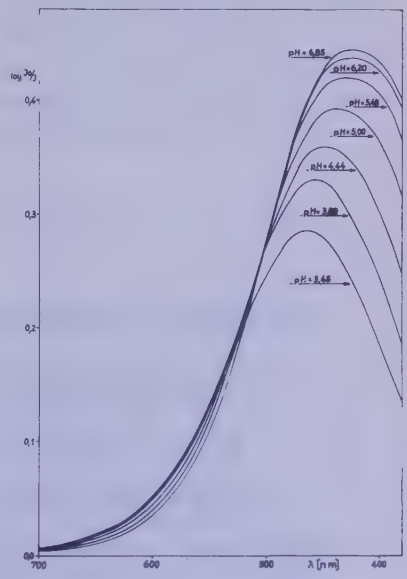
Abb. 1a-1c auf S. 19, 20.

Abb.1a-c(Legende S.20)









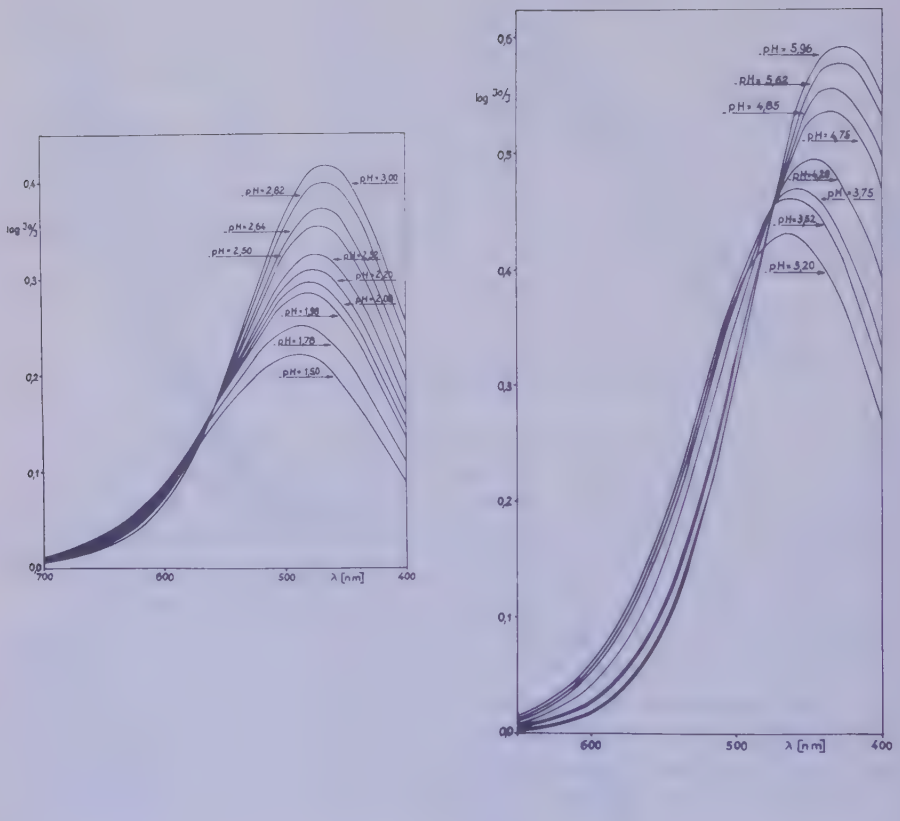


Abbildung 1. pH-Abhängigkeit der Elektronenspektren der Systeme

a: Acethydroxamsäure/Fe(III)-perchlorat
links: pH 1.56-2.36 rechts: pH 2.51-5.45

b: Glycinhydroxamsäure/Fe(III)-perchlorat
links: pH 1.60-3.38 rechts: pH 3.45-6.85

c: Hippurhydroxamsäure/Fe(III)-perchlorat
links: pH 1.50-3.00 rechts: pH 3.20-5.96

Konzentration jeweils $6 \cdot 10^{-3}$m (Ligand) und $2 \cdot 10^{-4}$m (Fe^{3+}), entsprechend einem Molverhältnis von 30:1. Ionenstärke: 0.1($NaClO_4$). Schichtdicke d = 1 cm.

Man erkennt, daß die Anwesenheit einer freien Aminogruppe eine längerwellige Lage der isosbestischen Punkte und höherliegende pH-Bereiche für erreichten Gleichgewichtszustand bedingt, als das bei ihrem Fehlen bzw. bei ihrer Acylierung der Fall ist. Entsprechendes gilt, wie Tabelle 3 (S.22) zeigt, für aromatische Hydroxamsäuren in Gegenwart von Fe(III)-Ionen, wenn man von der m-Amino-benzhydroxamsäure für das Gleichgewicht 1:1-/2:1-Komplex absieht. Der Ligand Nicotinhydroxamsäure entspricht bei diesen Verhältnissen weitgehend der Benzhydroxamsäure. Aus Abbildung 1 (S.19, 20) ist ferner ersichtlich, daß sich das beobachtete einfache Absorptionsmaximum, unabhängig von der Konstitution des Liganden, mit steigendem pH-Wert des betrachteten Systems zunehmend hypsochrom verschiebt und die Extinktion zunimmt. Dies gilt auch für die Beteiligung der in Tabelle 3 aufgeführten aromatischen Liganden an der Fe(III)-Komplexbildung.

Tabelle 3 enthält zusätzlich die λ_{max}-Werte der 1:1-Komplexe (ohne Liganden-Überschuß) und der 3:1-Komplexe (mit Liganden-Überschuß) aus Hydroxamsäuren und Fe(III)-perchlorat, die bei den angegebenen pH-Werten stabil sind. Daraus geht hervor: a) daß die 1:1-Komplexe im pH-Gebiet von 1.5 bis 1.7, die 3:1-Komplexe oberhalb pH 5 nahezu rein vorliegen, b) daß die Fe(III)-Komplexe mit aromatischen Liganden etwas längerwellig absorbieren als diejenigen mit aliphatischen bzw. cycloaliphatischen Liganden.

(Tab. 3 auf S. 22)

Tabelle 3. λ_{max}-Werte von 1:1- und 3:1-Hydroxamato-eisen(III)-Komplexen beim zugehörigen pH-Wert sowie λ-Werte der isosbestischen Punkte vom 1:1-/2:1- bzw. 2:1-/3:1-Komplex mit dem pH-Bereich des Gleichgewichtszustandes bei der Ionenstärke 0.1

λ_{max}-Werte gemessen bei 1:1 = ohne, bei 3:1 mit 20- bis 30-fachem Ligandenüberschuß in HCl bzw. NaOH/0.1m $NaClO_4$.- λ-Werte der isosbestischen Punkte: ermittelt bei 20- bis 30-fachem Ligandenüberschuß wie voranstehend.

Hydroxamsäure	1:1-Komplex λ_{max}[nm] bei (pH)	Gleichgewichte[λ = nm] 1:1-/2:1- und 2:1-/3:1-Komplex (pH-Bereich)		3:1-Komplex λ_{max}[nm] bei (pH)[a]
Acet-	500 (1.55)	554±2 (1.56-2.36)	466±2 (4.47-6.99)	422 (5.45)
Glycin-	490 (1.56)	620±5 (2.50-3.38)	516±2 (3.88-7.18)	423 (5.48)
N-Benzoyl-glycin(= Hippur)-	496 (1.64)	558±2 (1.98-3.00)	474±2 (3.75-6.28)	425 (5.62
Pyrrolidon-(5)-α-carboyl-	492 (1.66)	570±2 (1.76-2.34)	478±2 (3.57-5.60)	426 (5.36)
Benz-[b]	515 (1.69)	576±2 (1.50-2.39)	488±2 (3.49-4.17)	438 (5.12)
o-Amino-benz-(= Anthranil)-	515 (1.66)	635±5 (2.26-2.99)	507±2 (3.94-6.20)	448 (4.98)
m-Amino-benz-	513 (1.61)	582±3 (1.90-2.74)	504±2 (4.21-6.36)	436 (5.34)
p-Amino-benz-	516 (1.65)	690±5 (2.24-2.90)	514±2 (3.98->5.70)[c]	456 (5.20)
Pyridoyl-(3)-(= Nicotin)-	498 (1.56)	590±5 (2.25-3.14)	487±2 (3.70-5.78)	435 (5.13)

a) Angegeben ist jeweils der niedrigste pH-Wert, bis zu dem λ_{max} konstant ist, da Ligandenüberschuß besteht.

b) λ_{max}-Werte der Fe(III)-Komplexe von N-Alkyl- und N-Acylbenzhydroxamsäuren siehe bei S.MIZUKAMI und K.NAGATA, Coordinat.Chem.Rev. 3, 267 (1968).

c) Bei höheren pH-Werten wurde nicht mehr gemessen.

3) Sonderstellung der Histidinhydroxamato-eisen(III)-Komplexe

Während die bisher betrachteten Hydroxamsäuren purpurfarbene bis violette (1:1) oder orangefarbene bis gelbrote (3:1) Fe(III)-Komplexe bilden, erhält man aus Histidinhydroxamsäure und Fe(III)-Ion oberhalb pH 4 eine Blaufärbung. Diese ist beim Molverhältnis 2:1 und pH > 6 weitgehend stabil. Das Elektronenspektrum bei pH 6.92 (Abb.2) zeigt Maxima bei 630 (blau) und 525 nm (rot), In Anwesenheit eines Ligandenüberschusses gegenüber Fe(III) tritt bei annähernd gleichem pH-Wert (7.19) statt der rein blauen eine rotstichige Färbung auf, die bei niederen pH-Werten (z.B. 3.51) einer rein roten Farbe Platz macht(Abb.3). Dieser rote Komplex hat, wie nach der Geraden-Methode von ASMUS[84] (S.83) ermittelt wurde, die Zusammensetzung 1:1 (Abb.4).

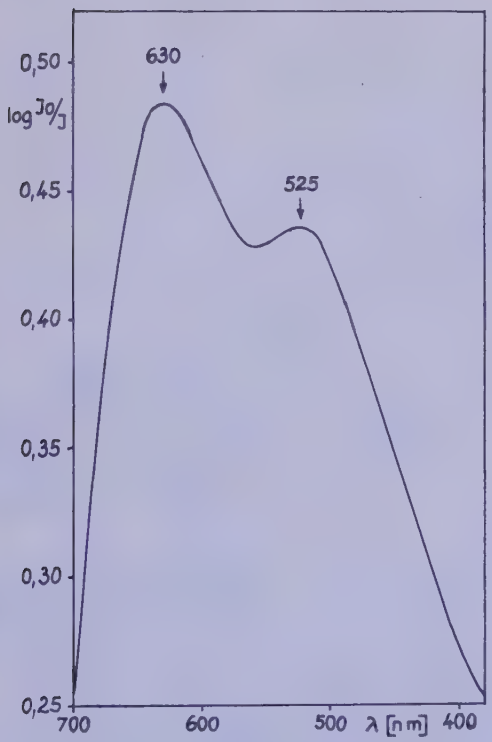


Abbildung 2
Elektronenspektrum des Systems Histidinhydroxamsäure/Fe(III)-perchlorat beim Molverhältnis 2:1 und pH 6.92 (1m Piperazin/NaOH-Puffer)
$c_{Fe} = 4 \cdot 10^{-4}$m,
Schichtdicke d = 1 cm.

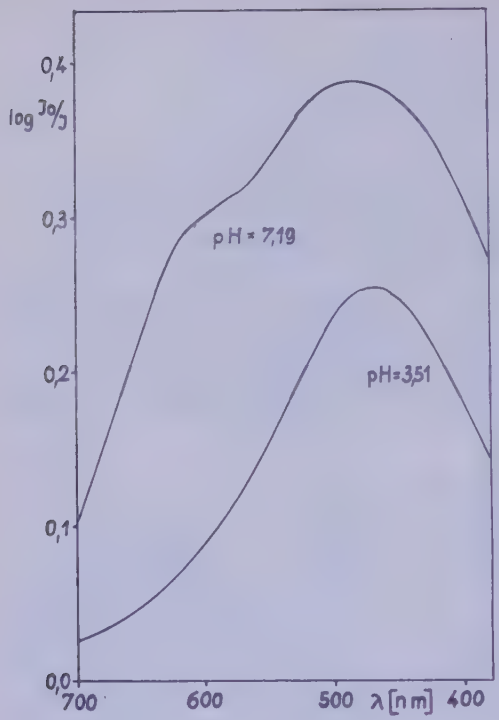


Abbildung 3

Elektronenspektren des Systems Histidinhydroxamsäure/Fe(III)-perchlorat beim Molverhältnis 30:1 und verschiedenen pH-Werten (eingestellt vor Zugabe der Fe-Ionen mit 0.1n Perchlorsäure)

$c_{Fe} = 2 \cdot 10^{-4}$m,
Schichtdicke d = 1 cm.

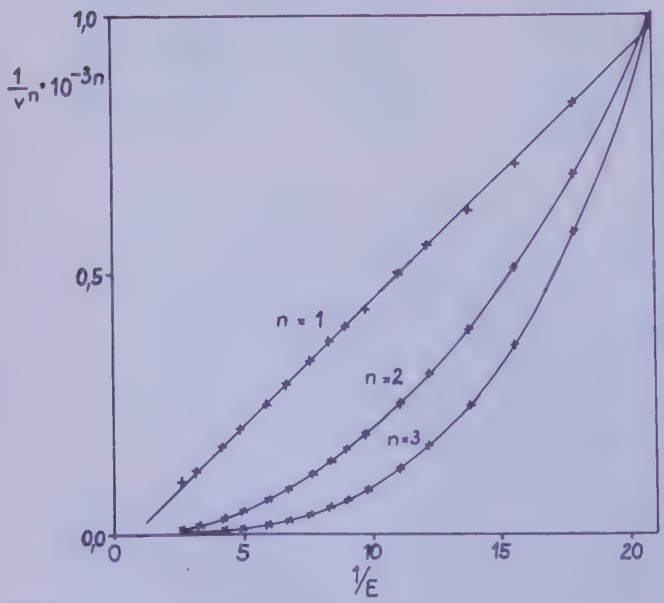


Abbildung 4

Ermittlung der Zusammensetzung des roten Komplexes (λ_{max} = 466 nm, Abb. 3) nach der Geraden-Methode

Gemessen bei λ = 480 nm, pH = 2.95 (0.1m Glycin/HCl-Puffer), Schichtdicke d = 1 cm,
$c_{Fe} = 4 \cdot 10^{-3}$m.

Während in den bisherigen Fällen der jeweilige pH-Wert vor der Zugabe der Eisen(III)-Ionen eingestellt wurde, erhält man bei nachfolgender Einstellung des pH-Wertes unter sonst gleichen Bedingungen (pH 3.47) einen blaustichigen Komplex (λ_{max} = 555 nm), der mit der Zeit zunehmend unter hypsochromer Verschiebung des Absorptionsmaximums und Extinktionsabnahme zerfällt, so daß zuletzt eine rosafarbene Lösung übrigbleibt (Abb. 5).

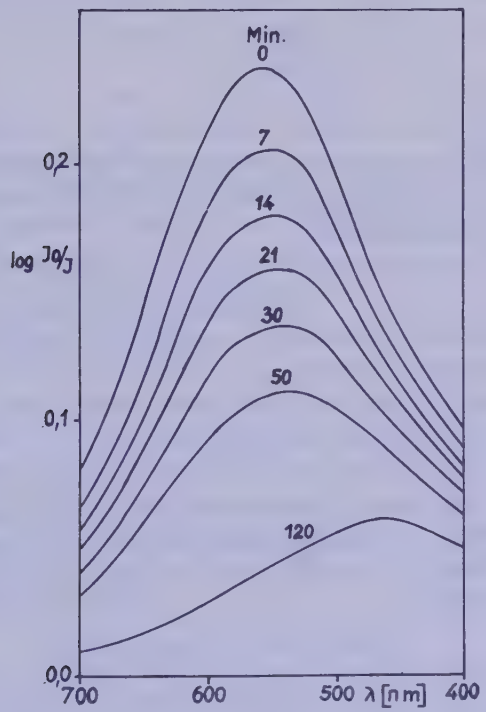


Abbildung 5

Zeitliche Änderung (Min.) des Elektronenspektrums vom System Histidinhydroxamsäure/Fe(III)-perchlorat beim Molverhältnis 30:1 und pH 3.47 (eingestellt mit 0.1n $HClO_4$ nach Zugabe der Fe-Ionen)

$c_{Fe} = 2 \cdot 10^{-4}$m, Schichtdicke d = 1 cm.

4) Thermodynamische Stabilitätskonstanten

a) Grundlagen des verwendeten Bestimmungsverfahrens

Nach VAREILLE[85,86] lassen sich die thermodynamischen Stabilitätskonstanten von Metall-Komplexen aus der Beziehung zwischen pH-Wert und der Extinktion beim isosbestischen Punkt zwischen zwei Komplextypen ermitteln. Zur Bestimmung bei den Hydroxamato-eisen(III)-Komplexen ist das von MATTOO[87] angegebene, allgemeinere Verfahren angewendet worden, das die Stabilitätskonstanten aus den Extinktionswerten bei beliebigen Wellenlängen ableiten läßt und zudem den Vorteil hat, daß die Konzentration des Metall-Ions (hier Fe^{3+}) nicht berücksichtigt zu werden braucht, wie folgende Gleichung (1) zeigt:

$$(E_\lambda \alpha^2)x_1 + (E_\lambda \alpha)x_2 + (E_\lambda)x_3 - \alpha^2 p - \alpha q - r - E_\lambda \alpha^3 = 0 \qquad (1)$$

Es bedeuten: E_λ = gemessene Extinktion ($\log I_0/I$) bei einer bestimmten, gewählten Wellenlänge λ

$\alpha = a/R$, wobei a = Protonen-Aktivität (aus gemessenem pH-Wert)

$R = C_A/(1 + \frac{a}{K_a})$ wobei R = dissoziierter Anteil des Liganden bei der eingesetzten Ligandenkonzentration C_A

K_a = Dissoziationskonstante des Liganden

$x_1 = K_I$, $x_2 = K_I \cdot K_{II}$, $x_3 = K_I \cdot K_{II} \cdot K_{III}$

$p = E_1 \cdot x_1$, $q = E_2 \cdot x_2$, $r = E_3 \cdot x_3$

Die Größen E_1, E_2 und E_3 entsprechen bei konstanter Wellenlänge und konstantem C_A den Extinktionen der Komplex-Teilchen $[FeR]^{2+}$, $[FeR_2]^+$ und $[FeR_3]$, die sich aus folgenden Beziehungen ergeben (RH = Hydroxamsäure):

$$RH + Fe^{3+} \rightleftharpoons [FeR]^{2+} + H^+$$

$$2\ RH + Fe^{3+} \rightleftharpoons [FeR_2]^+ + 2\ H^+$$

$$3\ RH + Fe^{3+} \rightleftharpoons [FeR_3] + 3\ H^+$$

Zur Lösung der Gleichung (1) mit sechs Unbekannten (x_1, x_2, x_3, p, q, r) müssen C_A, E_λ, pH und pK_a (Ligand) bekannt sein. Das Gleichungssystem mit den genannten Unbekannten wurde für di verschiedenen Liganden mit Hilfe eines Elektronenrechners (S.85 gelöst. Aus so ermittelten x-Werten erhält man die thermodynami schen Stabilitätskonstanten K_I, K_{II} und K_{III}.

b) pK_a-Werte der Liganden

Von den zur Lösung der Gleichung (1) erforderlichen bekannten Größen wurden C_A (Gesamtkonzentration an überschüssiger Hydroxamsäure) und pH (für den Stabilitätsbereich der verschiedenen Fe-Komplexe) frei gewählt. E_λ ist dann aus den Elektronenspektren bei bekanntem C_A und pH ablesbar (vgl.S.26 und Abb. 1, S.19, 20).

Die Dissoziationskonstanten (K_c) der Hydroxamsäure-Liganden bzw. die pK_a-Werte ($-\log K_c$) erhält man aus der Anwendung des Massenwirkungsgesetzes[88]:

$$K_c = \frac{[H^+]\cdot([B]+[H^+])}{[BH]-[H^+]} \qquad (2)$$

Hierin ist [BH] die Konzentration des nicht neutralisierten Anteils und [B] die Konzentration des neutralisierten Anteils an Hydroxamsäure bzw. Aminohydroxamsäure, die sich mit dem zugehörigen pH-Wert aus der jeweiligen pH-Titrationskurve des Liganden (mit NaOH bzw. $HClO_4$ bekannter Normalität) bei definiertem Ionen-Medium ($NaClO_4$) ergibt.

Während man bei den einfachen Hydroxamsäuren nur mit dem Hydroxamat-Anion, bei den Aminohydroxamsäuren auch mit dem Ammonium-Kation zu rechnen hat, kommt bei der Histidinhydroxamsäure noch die mögliche Protonierung des tertiären Stickstoffs vom Imidazol-Ring hinzu. Wie sich aus der pH-Titrationskurve (Abb.6) ergibt, überlappen sich die Puffergebiete der Systeme $\alpha\text{-}NH_2 \rightleftharpoons \alpha\text{-}NH_3^+$ und $\gtrless N \rightleftharpoons \gtrless NH^+$. Die zugehörigen Dissoziationskonstanten (K_{c1} für letzteres und K_{c2} für ersteres System) erhält man aus Gleichung (3)[89]:

$$(3)\quad K_{c2}\cdot\frac{a[L]+[OH^-]}{[H^+]} - \frac{1}{K_{c1}}\cdot[(2-a)\cdot[L]\cdot[H^+]-K_w] = [L]\cdot(1-a)-\frac{K_w}{[H^+]}$$

[L] = Bruttokonzentration des Liganden
a = Titrationsgrad (c_{HClO_4}:[L])
K_w = Ionenprodukt des Wassers; $[OH^-] = K_w/[H^+]$

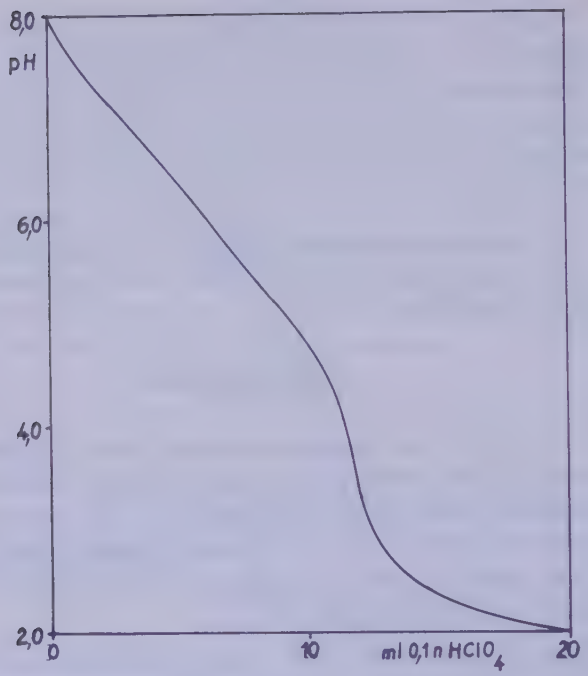


Abbildung 6

pH-Titrationskurve von Histidinhydroxamsäure (0.01m, 60 ml) in Gegenwart von $NaClO_4$ (0.1m) mit 0.1n $HClO_4$

Die pK_a-Werte der untersuchten Hydroxamsäuren, erhalten aus den nach Gleichung (2) bzw. (3) gewonnenen K_c-Werten, sind in Tabelle 4 (S.29) zusammengestellt. Mit aufgenommen wurden die pK_a-Werte für die Hydroxamatogruppe von Acet- und Benzhydroxamsäure, die SCHWARZENBACH[65] angegeben hat. Man erkennt, daß die pK_a-Werte der Hydroxamatogruppe von Hydroxamsäuren ohne und mit NH_2-Substitution sich nur unwesentlich unterscheiden. Auch Acylierung am Aminostickstoff hat keinen großen Einfluß (Hippurhydroxamsäure), schon aber, wenn es sich um eine ringständige Carbonamid-Gruppierung handelt [Pyrrolidon-(5)-α-carboyl-hydroxamsäure). Auffällig ist der noch niedrigere pK_a-Wert bei

der Nicotinhydroxamsäure. Aus den pK_a-Werten der Aminostickstoff-Gruppe ist ersichtlich, daß die Basizität in folgender Reihe bei den "Aminohydroxamsäuren" abnimmt:

α-NH_2>Hetero-N (5-Ring) > m-NH_2 > Hetero-N(6-Ring)>p- bzw.o-NH_2

Tabelle 4. pK_a-Werte von Hydroxamsäuren und "Aminohydroxamsäuren" Ionenstärke I = 0.1.

Hydroxamsäure	pK_a für Hydroxamato-Gruppe	pK_a für Aminostickstoff-Gruppe
Acet-	9.37[65]	--
Glycin-	9.17*)	7.42 (Lit.: 7.4[90], 7.7[63])*)
Hippur-	8.72 (Lit.[90] 8.8)	--
Pyrrolidon-(5)-α-carboyl-	8.40	--
Benz-	8.79[65]	--
o-Amino-benz-	8.86 (Lit.[91] 9.0)	2.75
m-Amino-benz-	8.65	3.60
p-Amino-benz-	9.03 (Lit.[92] 9.32)	2.84
Nicotin-	8.14 (Lit.[92] 8.3)	3.09
Histidin-	9.02	5.12 (Imidazol-N) 6.93 (Amino-N)

*) Bei der Ionenstärke 0.005 sind folgende pK_a-Werte angegeben[93]: 9.10 (Hydroxamato-Gruppe), 7.10 (α-NH_2-Gruppe).

c) log K- und log ß-Werte der Eisen(III)-Komplexe

Wie voranstehend (S.26,27) auseinandergesetzt wurde, hat man es bei den Hydroxamato-eisen(III)-Komplexen mit pH-abhängigen Gleichgewichten von insgesamt drei verschiedenen Komplextypen zu tun, für die unterschiedliche thermodynamische Stabilitäten zu erwarten sind. Die dies zum Ausdruck bringenden thermodynamischen Stabilitätskonstanten (K) ergeben sich aus der Anwendung des Massenwirkungsgesetzes auf die stufenweise Komplex-Bildung aus den einfachen bzw. Amino-hydroxamsäuren und Fe(III)-Ionen, wobei Protonen mit im Spiel sind (RH = Hydroxamsäure; s.S. 30):

$$1{:}1\text{-Komplex: } K_I = \frac{[FeR^{2+}]\cdot[H^+]}{[Fe^{3+}]\cdot[RH]}$$

$$2{:}1\text{-Komplex: } K_{II} = \frac{[FeR_2^{+}]\cdot[H^+]^2}{[Fe^{3+}]\cdot[RH]^2}$$

$$3{:}1\text{-Komplex: } K_{III} = \frac{[FeR_3]\cdot[H^+]^3}{[Fe^{3+}]\cdot[RH]^3}$$

Die Logarithmen der mittels des Verfahrens von MATTOO[87] (S.26) erhaltenen Werte dieser Stabilitätskonstanten sind in Tabelle 5 zusammengestellt. Sie enthält auch die als Stabilitätsprodukte bezeichneten[94] ß-Werte (als log ß), die hier über die Größe des Anteils an undissoziiertem 1:1-Hydroxamato-Komplex [log $ß_I$ = log K_I], 2:1-Komplex [log $ß_{II}$ = log($K_I \cdot K_{II}$)] oder 3:1-Komplex [log $ß_{III}$ = log($K_I \cdot K_{II} \cdot K_{III}$)] gegenüber seinen Dissoziationsprodukten aussagen.

Tabelle 5. Thermodynamische Stabilitätskonstanten von Hydroxamato-eisen(III)-Komplexen in wäßriger Lösung bei 22°

Hydroxamsäure	log K_I	log K_{II}	log $ß_{II}$	log K_{III}	log $ß_{III}$
Acet-	8.6±0.1	5.6±0.1	14.2±0.2	3.0±0.1	17.2±0.2
Glycin-	8.1±0.1	5.6±0.1	13.7±0.2	2.8±0.1	16.5±0.2
Hippur-	7.8±0.1	5.5±0.1	13.3±0.1	2.2±0.2	15.5±0.3
Pyrrolidon-(5)-α-carboyl-	7.9±0.1	5.4±0.1	13.3±0.2	2.4±0.1	15.7±0.3
Benz-	8.4±0.1	5.9±0.1	14.3±0.2	3.8±0.2	18.1±0.1
o-Amino-benz-	8.1±0.1	5.7±0.1	13.8±0.1	3.3±0.1	17.1±0.1
m-Amino-benz-	8.1±0.1	5.2±0.2	13.3±0.2	2.5±0.3	15.8±0.4
p-Amino-benz-	8.4±0.2	5.9±0.1	14.3±0.1	3.4±0.1	17.7±0.1
Nicotin-	7.0±0.1	4.5±0.1	11.5±0.1	2.1±0.1	13.6±0.1

Nach RABINOWITSCH und STOCKMAYER[95] enthalten Eisen(III)-perchlorat-Lösungen auch noch bei pH-Werten um Null Hydroxokomplexe des Eisen(III)-Ions. Da nach SCHWARZENBACH[65] bei einfachen Hydroxamsäuren (LH) keine Hydroxokomplexe vom Typ $FeLOH^+$ und FeL_2OH im Spiel sind, muß das Hydroxo-eisen(III)-Ion $[Fe(OH)]^{2+}$, welches beim pH-Wert der Eisen(III)-perchlorat-Lösung von 1.3 (vgl.S. 82) überwiegend vorliegen sollte, vor der Reaktion mit

den Hydroxamsäuren zerfallen. Für den Zerfall kommt folgendes Gleichgewicht in Betracht, für das die thermodynamische Stabilitätskonstante bekannt ist:

$$[Fe(OH)]^{2+} + H^+ \rightleftharpoons Fe^{3+} + H_2O;\ \log K = 2.63^{96)}$$

Addiert man diesen log K-Wert zu den in Tabelle 5 verzeichneten Stabilitätskonstanten, so erhält man die in Tabelle 6 zusammengestellten, allein maßgebenden Werte.

Tabelle 6. Thermodynamische Stabilitätskonstanten von Hydroxamato-eisen(III)-Komplexen nach Berücksichtigung des vorgelagerten Zerfalls von $[Fe(OH)]^{2+}$

Hydroxamsäure	log K_1	log K_2	log β_2	log K_3	log β_3
Acet-	11.2	8.2	19.5	5.6	25.1
Glycin-	10.7	8.2	19.0	5.4	24.4
Hippur-	10.4	8.1	18.6	4.8	23.4
Pyrrolidon-(5)-α-carboyl-	10.5	8.0	18.6	5.0	23.6
Benz-	11.0	8.5	19.6	6.4	26.0
o-Amino-benz-	10.7	8.3	19.1	5.9	25.0
m-Amino-benz-	10.7	7.8	18.6	5.1	23.7
p-Amino-benz-	11.0	8.5	19.6	6.0	25.6
Nicotin-	9.6	7.1	16.8	4.7	21.5

Aus Tabelle 6 geht hervor, daß die log K-Werte mit steigender Anzahl an gebundenen Liganden abnehmen, während die Stabilitätsprodukte (log ß-Werte) entsprechend zunehmen. Ferner fällt auf, daß bei Anwesenheit von einem zusätzlichen Stickstoff-Atom in der Hydroxamsäure die Stabilitätskonstanten stets niedriger als bei den Grundverbindungen sind, was sich besonders bei der Nicotinhydroxamsäure als Ligand ausprägt.

5) Kinetik des Eisenaustausches bei Aminohydroxamato-eisen-(III)-Komplexen

Um die Geschwindigkeit des Eisen(III)-Austausches zwischen den Aminohydroxamato-eisen(III)-Komplexen auf einen Hydroxamsäure-Gruppen enthaltenden Liganden zu untersuchen, dessen

Fe(III)-Komplex eine höhere oder gleiche thermodynamische Stabilität besitzt, wurden als Eisen-Donatoren Trianthranilhydroxamato-eisen(III) (log β_3 = 25; zweizähniger Ligand) und Ferroxamin B (log β = 31[65]; sechszähniger Ligand; Formel auf S.6), als Eisen-Acceptor das Serum-Protein Transferrin (log β = 31[97]; Mol.-Gew. 88 000[98]) gewählt. Das Transferrin bildet mit Eisen(III)-Ionen, wobei Hydrogencarbonat zugegen sein muß, nach SCHADE[99] Transferrino-di-eisen(III)-hydrogencarbonat, in dem nach BAYER und GLADEN[100] Hydroxamato-Gruppen als Bindungszentren anzunehmen sind.

Tabelle 7. Daten zum Eisen-Austausch von Trianthranilhydroxamato-eisen(III) ⟶ Transferrino-di-eisen(III)-hydrogencarbonat in $NaHCO_3/CO_2$-Puffer vom pH 7.4

Eisen(III)-Komplex	Stabilität log β	λ_{max} [nm] (ε_{max})	Eingesetzt c [Mol/l] Fe^{3+}	Ligand	log I_o/I bei λ = 470 nm vor Austausch	nach Austausch	korr.[f]
Trianthranilhydroxamato-eisen(III) (eingesetzt)	25[a]	450 (3350)[a]	10^{-4}	10^{-2}	0.335 Kompl.[b]	0.005 Lig.[d]	0.371 (vor)
Transferrino-di-eisen(III)-hydrogencarbonat (entstanden)	31[97]	470 (2500)[98]	--	$5\cdot10^{-5}$	0.036 Lig.[c]	0.286 Kompl.[e]	0.245 (nach)

a) Eigene Messungen.- b) Komplex beim Molverhältnis Fe:Ligand (Anthranilhydroxamsäure) = 1:100.- c) Eigenabsorption des Liganden Transferrin bei λ = 470 nm und c = $5\cdot10^{-5}$ m.- d) Eigenabsorption des Liganden Anthranilhydroxamsäure bei λ = 470 nm und c = 10^{-2} m.- e) Endwert log I_o/I aus Abbildung 7 (S.33).- f) Korrektur nach Austausch: log I_o/I = 0.286[e] - (0.036[c] + 0.005[d]).

Wie aus Abbildung 7a (S.33) und Tabelle 7 hervorgeht, gibt das Trianthranilhydroxamato-eisen(III) (eingesetzt 2 Moläquivv. mit Ligandenüberschuß) bei pH 7.4 in wäßrigem Hydrogencarbonat/CO_2-Puffer das Eisen vollständig innerhalb 25 Min. an zugesetztes Transferrin (2 Moläquivv., bez. auf Fe) ab. Es sind also Transferrino-di-eisen(III)-hydrogencarbonat und Anthranilhydroxamsäure entstanden. Man erkennt dies daran (Tab.7), daß log I_o/I des Anthranilhydroxamsäure-Komplexes von 0.335 (gemessen

bei λ = 470 nm, dem λ_{max}-Wert des Transferrin-eisens) nach Zugabe der für die Fe-Bindung äquivalenten Menge Transferrins, dessen Eigenabsorption (log I_o/I = 0.036) berücksichtigt wurde (korr. log I_o/I = 0.371) auf 0.286 fällt. Wird hiervon die Eigenabsorption von Transferrin und diejenige der nun gänzlich freien Anthranilhydroxamsäure (log I_o/I = 0.005 bei 10^{-2} Mol und λ = 470 nm) abgezogen, so erhält man log I_o/I = 0.245, während nach der molaren Extinktion des Transferrin-eisen-Komplexes (ε_{max} = 2500 bei λ_{max} = 470 nm) der Wert 0.250 zu erwarten war.

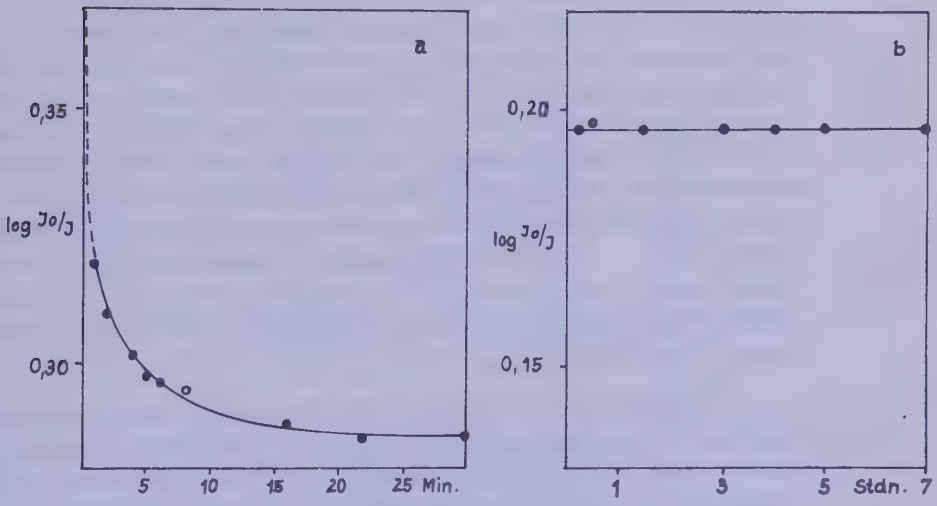


Abbildung 7

Kinetik des Eisen-Austausches (pH = 7.4, Hydrogencarbonat/CO_2-Puffer) beim Transferrin durch

a: Trianthranilhydroxamato-eisen(III), $c_{Fe^{3+}} = 10^{-4}$m; Molverhältnis Fe:Ligand = 1:100

b: Ferrioxamin B, $c_{Fe^{3+}} = 10^{-4}$m; Molverhältnis Fe:Ligand = 1:1

Zugesetztes Transferrin: c = $5 \cdot 10^{-5}$m (entspr. 2 Fe/Mol).

Entsprechend dem Anthranilhydroxamato-eisen(III)-Komplex überträgt Trinicotinhydroxamato-eisen(III) (Molverhältnis Fe:Ligand wieder 1:100; log β_3 = 21.5) sein Eisen an die für Fe äquivalente Menge Transferrin, wozu, wie aus den Messungen (s.

experimenteller Teil, S. 90) hervorgeht, eine ähnliche Zeit erforderlich ist.

Keinen Übergang von Eisen auf Transferrin beobachtet man unter sonst gleichen Bedingungen vom Ferrioxamin B als Eisen-Donator (Abb. 7b, S.33).

6) Verhalten von Hydroxamato-eisen(III)-Komplexen als biologische Eisen-Donatoren

Frühere gemeinschaftliche Untersuchungen zwischen Arbeitskreisen des eigenen Institutes mit denen des Institutes für Pharmakologie und Toxikologie unserer Universität hatten ergeben, daß radioaktives ^{59}Fe, welches an Hydroxamsäuren, die ein zusätzliches N-Atom enthalten, gebunden ist, nach oraler oder intravenöser Verabreichung an Ratten bevorzugt das Knochenmark aufsucht und dann im Hämoglobin der Erythrocyten erscheint. Als Liganden wurden verwendet: Glycinhydroxamsäure (oral[71], intravenös [70,81]), Anthranilhydroxamsäure (intravenös[83]), Nicotinhydroxamsäure (intravenös[70,81], oral bei normalen[71-73] und anämischen Ratten[73]) sowie Pyrrolidon-(5)-α-carboyl-hydroxamsäure (intravenös[83]).

Die genannten biologischen Untersuchungen wurden nun ausgedehnt auf Acet- und Benzhydroxamsäure als NH_2-freie Analoga von Glycin- und Anthranilhydroxamsäure, auf die Isomeren der letzteren (m- und p-Amino-benzhydroxamsäure) sowie auf Hippurhydroxamsäure, die wie die Pyrrolidon-Verbindung eine Carbonamid-Gruppe enthält, welche aber nicht ringständig ist. Hinsichtlich ihrer Sonderstellung bei der Komplexierung von Fe(III)-Ionen interessierte ferner das biologische Verhalten von Histidinhydroxamsäure in Bindung an ^{59}Fe. Die Verabreichung der Komplexe (Ligandenüberschuß, pH = 6.4 - 7.5) geschah intravenös bei Ratten, wobei man sich der früher beschriebenen Methodik (vgl. Angaben im exper. Teil, S. 97) bediente. Zur Kontrolle wurde rein ionisches Eisen ($^{59}FeCl_3$) in wäßriger Lösung (pH 2.0) ebenfalls i.v. verabreicht und die ^{59}Fe-Verteilung auf Blut und Organe normaler Ratten vergleichend mit derjenigen des an die Hydroxamsäuren gebundenen Eisens festgestellt. Die Ergebnisse sind in den Tabellen 8 und 9 (S. 35, 36) enthalten.

Tabelle 8. Verteilung von radioaktiv markiertem Eisen ohne und bei Anwesenheit von Hydroxamsäuren in Blut und Organen der Ratte 1 Stde. bzw. 7 Tage nach intravenöser Verabreichung

Molverhältnis Fe:Ligand = 1:20; die angegebenen Streuungen beziehen sich auf 5 Tiere. Kontrolle: $^{59}FeCl_3$ allein.

Hydroxamato-Fe(III)-Komplexe	pH	% des i.v. verabreichten ^{59}Fe, wiedergef. in Serum	Erythrocyten	Knochenmark	Leber	% ^{59}Fe-Retention, gesamt[a]
		1) 1 Stde. nach Verabreichung				
Kontrolle	2.0	31.1±4.8	2.2±0.8	21.0±2.3	8.5±0.7	--
m-Amino-benz-	6.4	38.1±5.8	2.9±1.4	21.3±4.5	5.8±1.1	--
p-Amino-benz-	6.2	33.9±6.7	4.4±2.8	24.6±6.8	7.2±0.6	--
Benz-	7.3	25.2±6.5	5.8±1.0	25.6±2.8	5.9±0.5	--
Hippur-	7.3	28.8±6.6	7.9±4.4	26.3±4.4	7.0±0.8	--
Acet-	6.3	33.2±7.1	2.0±1.8	17.4±4.3	7.2±2.2	--
Histidin-	7.4	17.3±5.4	2.7±2.2	24.5±6.0	4.4±0.5	--
		2) 7 Tage nach Verabreichung				
Kontrolle	2.0	0.0	60.9±6.4	4.1±0.9	11.1±2.5	98.8±1.2
m-Amino-benz-	6.4	0.0	61.7±2.3	3.4±0.7	8.4±1.9	97.2±1.9
p-Amino-benz-[b]	6.2	0.0	63.6±5.8	4.2±0.7	9.7±1.8	95.3±1.5
Benz-	7.3	0.0	68.6±10.0	3.5±0.6	6.2±2.6	98.0±3.1
Hippur-	7.3	0.0	60.3±7.8	4.1±1.2	7.7±2.1	97.3±1.8
Acet-	6.3	0.0	50.1±16.7	4.1±0.7	14.8±5.1	101.2±1.6
Histidin-	7.4	0.0	48.6±6.6	4.2±0.8	7.8±1.8	95.9±2.4

a) Ganztiermessungen nach 7 Tagen.- b) Werte von nur 3 Tieren.

Tabelle 9. Verteilung des radioaktiv markierten Eisens ohne und bei Gegenwart von Histidinhydroxamsäure in Blut und Organen der Ratte nach intravenöser Applikation

Zahl der Tiere: n = 5, worauf sich die angegebenen Streuungen beziehen.
Kontrolle: $^{59}FeCl_3$ allein.

Ligand:Fe	pH	% des intravenös verabreichten ^{59}Fe, wiedergefunden in: Serum	Erythrocyten	Knochenmark	Leber	Milz	Lunge	Niere	Darm	Rest-Tier (Muskulatur)
1) 1 Stde. nach Verabreichung										
Kontrolle	2.0	21.1±4.7	4.8±2.6	20.8±3.6	8.2±1.5	3.0±1.3	0.7±0.3	1.1±0.3	4.9±0.3	52.7±6.5
10:1	7.3	17.1±2.0	2.6±0.5	19.0±2.1	4.5±0.2	1.5±0.8	0.7±0.6	0.9±0.2	5.3±0.8	66.1±5.2
50:1	7.5	16.8±3.7	4.2±2.4	23.2±4.5	5.7±0.8	2.4±1.0	0.5±0.2	0.7±0.1	5.5±0.6	60.9±2.5
100:1	7.5	20.0±4.4	5.1±2.2	22.2±4.0	5.4±0.3	2.8±2.2	0.6±0.3	0.6±0.2	5.6±0.9	57.3±2.1
2) 7 Tage nach Verabreichung										
Kontrolle	2.0	0.0	53.0±4.8	4.5±2.5	11.5±2.7	0.6±0.5	--	0.3±0.2	2.4±0.3	31.9±1.3
10:1	7.3	0.0	47.9±3.9	6.1±1.8	7.8±1.8	0.5±0.4	--	0.5±0.2	2.1±0.3	41.6±2.4
50:1	7.5	0.0	46.5±6.7	4.4±2.6	10.8±2.6	1.7±0.9	--	0.3±0.2	2.6±0.3	37.6±1.2
100:1	7.5	0.0	60.1±6.9	4.4±1.0	5.8±1.9	1.9±1.0	--	--	2.3±0.1	31.2±4.4

Wie Tabelle 8 zeigt, finden sich bei den mit den Hydroxamato-eisen(III)-Komplexen behandelten Ratten, wie bei den Kontrolltieren, 1 Stde. nach der Verabreichung noch 25 - 30% der ^{59}Fe-Aktivität im Serum. Nur nach Gabe des Histidinhydroxamato-Komplexes ist der Serum-Fe-Gehalt geringer (17%). Rund 25% des ^{59}Fe sind, fast unabhängig von der Art des Liganden und auch bei den Kontrolltieren, im Knochenmark (Femur-Knochen), aber nur wenige Prozent des Angebots in den Erythrocyten enthalten, wobei nur im Falle des Benz- und des Hippurhydroxamsäure-Liganden ein etwas höherer Wert (6 - 8%) erscheint. Das in der Leber abgelagerte Eisen liegt in allen Fällen unterhalb von 10% der verabreichten Gesamtmenge, besonders tief nach Gabe des Histidinhydroxamsäure-Komplexes. Verwendet man statt des 20fachen molaren Liganden-überschusses gegenüber Fe (Tab.8) ein Molverhältnis Ligand:Fe = 100:1, so ergeben sich keine signifikanten Unterschiede in der Fe-Verteilung (Werte in Tab. 33, S. 101).- 7 Tage nach der Verabreichung von komplex und nicht-komplex gebundenem ^{59}Fe ist dieses im Blutserum zugunsten der Anhäufung in den Erythrocyten (50 - 60%) verschwunden. Selbst das Knochenmark enthält nur noch wenig an ^{59}Fe-Aktivität (3 - 4% des Angebots) und auch der relative Anteil in der Leber hat sich kaum verändert, wenn man von der Erhöhung (auf 11 bzw. 14%) nach Angebot von $^{59}FeCl_3$ bzw. Triacethydroxamato-eisen(III) absieht. Ganztier-Messungen zum gleichen Zeitpunkt nach der Verabreichung der ^{59}Fe-Verbindungen zeigten, daß in allen Fällen nahezu die gesamte ^{59}Fe-Aktivität wiedergefunden, d.h. keine nennenswerten Mengen Eisen ausgeschieden wurden.

Die Ausnahmestellung des Systems Histidinhydroxamsäure/$FeCl_3$ hinsichtlich des Fe-Gehaltes im Serum beim 1-Stde.-Versuch veranlaßte hier Untersuchungen der ^{59}Fe-Verteilung in Abhängigkeit von der Ligandenkonzentration sowie der Verteilung auf weitere Organe: Milz, Lunge, Nieren, Darm und Muskulatur (im wesentlichen dem Rest-Tier entsprechend). Dabei zeigte sich (Tab.9): 1) daß nur beim Molverhältnis Ligand:Fe = 100:1 in den Erythrocyten eine signifikante Erhöhung des Fe-Gehaltes eintritt; 2) daß die zur Prüfung neu hinzugezogenen Organe (ausschließlich Muskulatur) weniger als 7% (1 Stde.) bzw. 3% (7 Tage) des Fe-Angebots enthalten; 3) daß sich 1 Stde. nach der Verabreichung

mehr als 50% der Fe-Gesamtmenge in der Muskulatur finden und hiervon, wie bei Darm und Knochenmark, nahezu die Hälfte oder mehr innerhalb 7 Tagen zugunsten der Erythrocyten wieder remobilisiert wird.

D) Komplex-Bildung von Aminohydroxamsäuren mit Kupfer-Ionen

1) Bisherige Untersuchungen

LEY und MÄNNCHEN[101] fanden 1913, daß Glycinhydroxamsäure mit Kupfer sowohl einen grünen als auch einen violetten Kupferkomplex zu bilden vermag. WIELAND und FRITZ[102] beschäftigten sich anläßlich einer Untersuchung über den stufenweisen Abbau von Peptiden mit Hilfe der Lossen-Reaktion auch mit der Löslichkeit der Kupferkomplexe einiger Aminohydroxamsäuren, ohne sich mit diesen sonst weiter zu befassen. BIELIG und DELL[75] griffen dieses Problem auf, isolierten verschiedene derartige Kupferverbindungen und diskutierten ihre Struktur anhand der Elementarzusammensetzung und der IR-Spektren.

CIELESZKY, DÉNES und SÁNDI[93] bestimmten polarographisch die thermodynamische Stabilitätskonstante von violettem Diglycinhydroxamato-kupfer(II) zu log $(K_1 \cdot K_2)$ = 19.07, während SCHWARZENBACH[65] für den entsprechenden Komplex der Acethydroxamsäure, d.h. der unsubstituierten Verbindung, log K_1 = 7.9 fand.

Die Schwerlöslichkeit der grünen Kupferverbindungen macht man sich zur präparativen Darstellung reiner Hydroxamsäuren zunutze, die aus ihnen mit H_2S freigesetzt werden. Auf diese Weise stellte MIOLATI[103] schon 1892 Acethydroxamsäure dar. Auch Glycinhydroxamsäure wurde so rein erhalten[101].

2) Bildung, Elektronenspektren und Zusammensetzung von Hydroxamato-kupfer(II)-Komplexen

a) Vorbemerkungen

Zum Studium des Verhaltens gegenüber Kupfer(II)-Ionen (Kupfer-acetat und -sulfat) wurden aliphatische Hydroxamsäuren mit freier, acylierter und ringständiger Aminogruppe [Glycin-, Hippur- und Pyrrolidon-(5)-α-carboyl-hydroxamsäure] untereinander sowie mit Acethydroxamsäure verglichen. Als zweite Liganden-gruppe zog man die aromatischen, stellungsisomeren Aminobenzhydroxamsäuren, die heterocyclische Nicotinhydroxamsäure und die unsubstituierte Benzhydroxamsäure zu den vergleichenden Untersuchungen heran.

Anhand der Elektronenspektren wurde die Bildung verschiedener Kupfer(II)-Komplexe in Abhängigkeit vom pH-Wert ermittelt, woraus sich die Stabilitätsbereiche und die Absorptionsmaxima ergaben.

Die Zusammensetzung von löslichen Kupfer(II)-Komplexen ist teils nach der Methode der kontinuierlichen Variation von JOB[82], teils nach dem Verfahren der molaren Verhältnisse von YOE und JONES[104] ermittelt worden. Bei in Wasser schwerlöslichen Hydroxamato-kupfer(II)-Komplexen diente hierzu die Methode von ASMUS[105], wobei in Abwandlung der JOBschen Reihe das Gewicht des Komplexniederschlags anstelle der Extinktion gegen den Molenbruch graphisch aufgetragen wird. Anhand von je einem typischen Beispiel werden die mit diesem Verfahren erzielten Ergebnisse im folgenden durch Abbildungen erläutert.

Einige der schwerlöslichen Hydroxamato-kupfer(II)-Komplexe wurden isoliert, um aus der Bruttozusammensetzung Aufschlüsse für eventuelle zusätzliche Liganden zu erhalten. Zur Erkennung der am Komplexzentrum beteiligten Donor-Gruppen sind auch die UV-Spektren herangezogen worden. Weiterhin wurden potentiometrische pH-Titrationen ausgeführt, um Aufschluß darüber zu erhalten, wieviel Protonen bei den einzelnen Stufen der Komplex-Bildung freigesetzt werden.

b) Komplextypen bei aliphatischen und heteroalicyclischen Aminohydroxamsäuren

Bei der Glycinhydroxamsäure als Ligand stehen zwei Komplextypen im pH-Bereich von 4 - 6 miteinander im Gleichgewicht, was spektral durch zwei isosbestische Punkte bei 592 und 487 nm angezeigt wird (Abb.8, S.40). Der grüne wasserlösliche 1:1-Komplex (JOB-Methode) mit λ_{max} = 655 nm (bei pH 4.51) ist zwischen pH 4.1 und 4.5, der violette 2:1-Komplex (Methode von YOE und JONES, Abb.9, S.41) ist bei pH-Werten oberhalb 5.3 bevorzugt(λ_{max}= 535 nm bei pH 5.90). Die optisch ermittelten Zusammensetzungen stimmen mit denen überein, die BIELIG und DELL[75] aufgrund der Bruttoformel der isolierten Komplexe erhalten hatten. Offenbar entsteht im alkalischen Bereich noch ein weiterer 2:1-Komplex mit blaustichig violetter Farbe (λ_{max} = 554 nm bei pH 9.12; Abb.10, S.41).

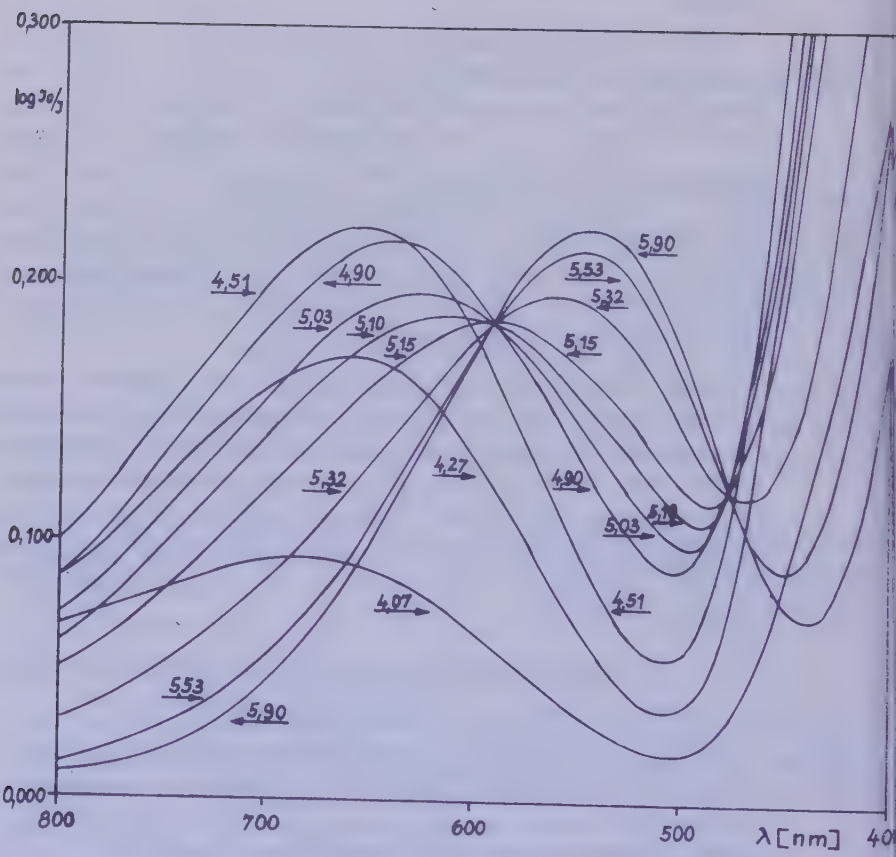


Abbildung 8

Absorptionsspektren des Systems Kupfer(II)/Glycinhydroxamsäure bei verschiedenen pH-Werten

Molverhältnis Ligand:Kupfer = 10:1,
$c_{Cu} = 6 \cdot 10^{-4}$ m, Schichtdicke d = 5 cm.

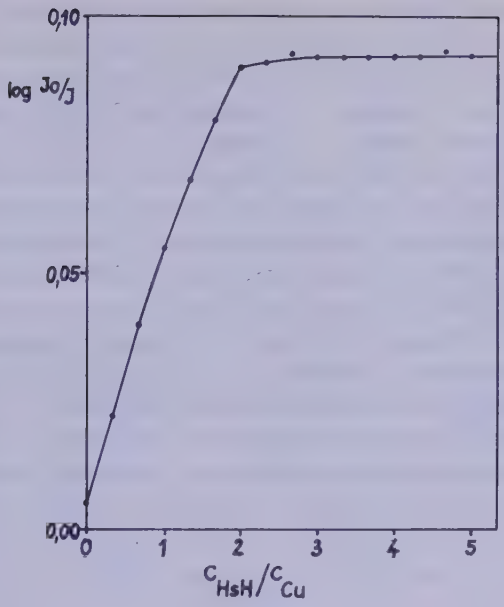


Abbildung 9

Spektrophotometrische Bestimmung der Zusammensetzung des Komplexes aus Glycinhydroxamsäure und Kupfer(II)-Ionen bei pH 7.2 nach der Methode des molaren Verhältnisses

λ = 550 nm; Schichtdicke d = 2cm; $c_{Cu} = 6 \cdot 10^{-4}$m.

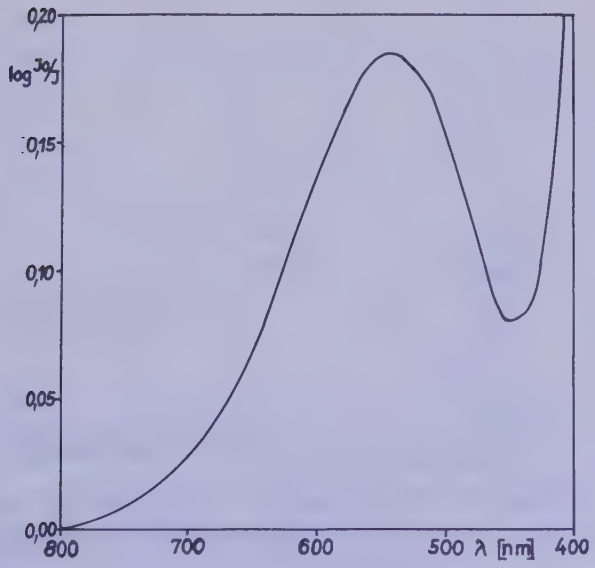


Abbildung 10. Elektronenspektrum von Diglycinhydroxamato-kupfer(II) bei pH 9,12 in wäßriger Lösung

Molverhältnis Ligand:Kupfer = 2:1; $c_{Cu} = 2.5 \cdot 10^{-3}$m; Schichtdicke d = 1 cm.

Für die Bildung eines 1:1- und zweier 2:1-Komplexe von Kupfer(II)-Ionen mit Glycinhydroxamsäure spricht auch das Ergebnis der pH-Titration (Abb.11). 0.1 m $NaClO_4$-Lösung von Kupfer(II)-sulfat ($c = 10^{-2}$m) + Ligand, im Molverhältnis 1:2 vermischt, ergehen eine tiefgrüne Lösung (1:1-Komplex). Bei deren Titration mit 0.1m NaOH entsteht über Zwischentöne der violette 1:2-Komplex, wenn das bei der 1:1-Komplex-Bildung freigesetzte Proton, das von der α-Aminogruppe eingefangen war, und ein zweites Proton aus dem neu hinzutretenden Liganden neutralisiert sind. Im Bereich oberhalb pH 9 verläuft die Titrationskurve erneut flacher, was für den Verbrauch weiterer Protonen (Bildung des blaustichigen 1:2-Komplexes) spricht. Der Kurvenverlauf entspricht dem von CIELESZKY[93] am gleichen System ermittelten; jedoch erhielten diese Autoren einen weiteren Sprung zwischen pH 4 und 5, da sie Glycinhydroxamsäure-hydrochlorid eingesetzt hatten.

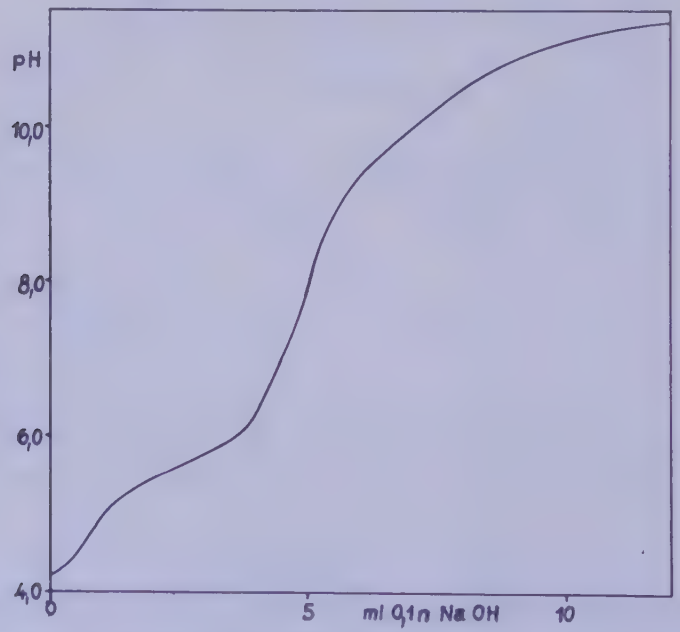


Abbildung 11. Titrationskurve von Kupfer und Glycinhydroxamsäure mit 0.1n NaOH in 0.1m $NaClO_4$

Molverhältnis $c_{Cu}:c_{HsH} = 1:2$; c_{Cu} (als $CuSO_4$) = $3.3 \cdot 10^{-3}$m.

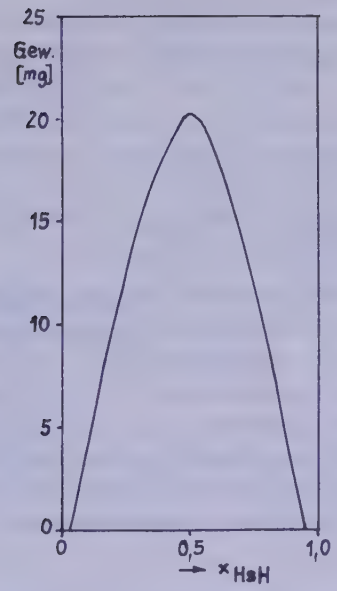


Abbildung 12

Ermittlung der Zusammensetzung des schwerlöslichen grünen Kupfer(II)-Komplexes der Hippurhydroxamsäure

pH = 5.0 (0.2m Acetatpuffer);
x_{HsH} = Molenbruch der Hippurhydroxamsäure.

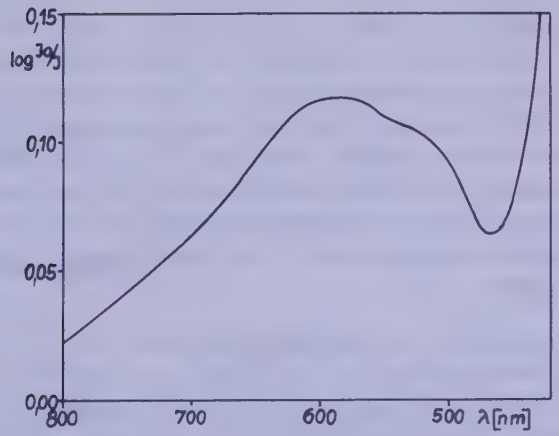


Abbildung 13. Absorptionsspektrum von Acethydroxamsäure/Kupfer bei pH > 12

Molverhältnis Ligand:Kupfer = 5:1; $c_{Cu} = 8 \cdot 10^{-4}$ m; Schichtdicke d = 5 cm.

Anders als die Glycinhydroxamsäure verhält sich ihr N-Benzoyl-Derivat, die Hippurhydroxamsäure, gegenüber Kupfer(II)-Ionen. Mit Kupfer(II)-acetat entsteht bei pH 4 - 5 ein zwar ebenfalls grüner, aber schwerlöslicher Komplex, der bei pH 5 die Zusammensetzung 1:1 (Abb.12, S.43) hat (Methode von ASMUS). Der isolierten Verbindung kommt die Bruttoformel $CuC_9H_{10}N_2O_4$ zu, was für eine Aquo-Gruppe als weiteren Liganden spricht. Dieser Komplex löst sich (bei einem Molverhältnis 4:1) erst oberhalb pH 12 mit rotvioletter Farbe (λ_{max} = 520 nm) wieder auf; es sollte sich ein 2:1-Komplex gebildet haben.

Auch die zum Vergleich geprüfte Acethydroxamsäure bildet einen in Wasser schwerlöslichen, grünen 1:1-Komplex. Dieser geht aber im alkalischen Gebiet (oberhalb pH 12) nicht mit rotvioletter, sondern (bei einem Molverhältnis 5:1) mit grüngelber Farbe in Lösung. Das Elektronenspektrum (Abb. 13, S.43) zeigt ein breites Absorptionsmaximum (λ = 585 nm), dem eine Schulter (λ = 527 nm) zugeordnet ist. Ähnliche Verhältnisse werden uns beim System Kupfer(II)/m- bzw. p-Amino-benzhydroxamsäure begegnen (S. 48).

Grasgrün und ebenfalls im wäßrigen System schwerlöslich ist der 1:1-Komplex (Methode von ASMUS) aus Kupfer(II)-acetat und Pyrrolidon-(5)-α-carboyl-hydroxamsäure, den bereits BIELIG und DELL[75] isoliert und nach der Elementaranalyse von gleicher Zusammensetzung gefunden hatten. Er geht im alkalischen Bereich (ab pH 11) in einen löslichen, blauvioletten 2:1-Komplex (Methode von YOE und JONES) über. Das Elektronenspektrum (Abb.14, S. 45) zeigt das einfache Maximum bei 568 nm. Aus dem nachstehend beschriebenen Verlauf der pH-Titration geht aber hervor, daß noch ein weiterer, und zwar grüner 2:1-Komplex existieren muß.

Geht man bei der pH-Titration (Abb. 15, S.45) vom blauvioletten 1:2-Komplex, d.h. von $CuSO_4$ (c = 10^{-2}m) und Pyrrolidon-(5)-α-carboyl-hydroxamsäure in einem Überschuß 0.5n NaOH (pH 11) 0.1m $NaClO_4$ aus und titriert mit 0.1n $HClO_4$, so werden nach Neutralisation des Überschusses an NaOH in drei Schritten insgesamt sechs Protonen aufgenommen. Im Gebiet von pH 10.7 (erster Sprung) ist der Übergang in einen löslichen grünen Komplex (vermutlich 1:2) erkennbar. Ab pH 9.5 fällt ebenfalls ein grüner, aber

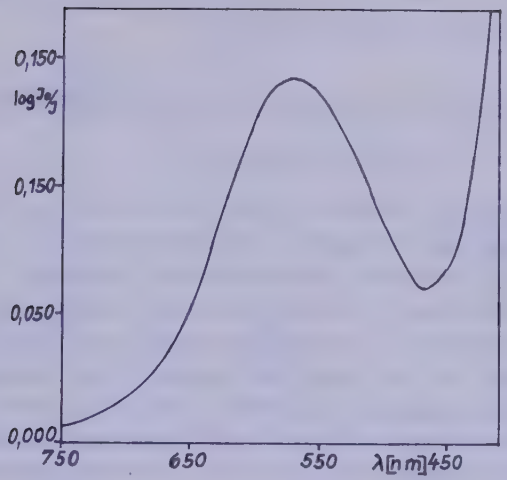


Abbildung 14

Absorptionsspektrum des 2:1-Kupfer(II)-Komplexes der Pyrrolidon-(5)-α-carboyl-hydroxamsäure

pH = 11.38; c_{Cu} = 1.6 x 10^{-3}m; Schichtdicke d = 1 cm.

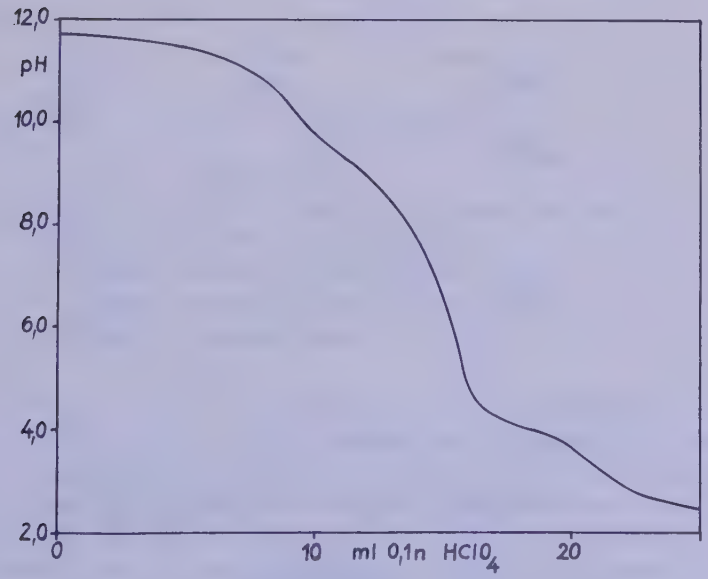


Abbildung 15

Titrationskurve von Kupfer und Pyrrolidon-(5)-α-carboyl-hydroxamsäure nach Zugabe von 4 ml 0.5 n NaOH in 0.1 m $NaClO_4$

Titriert mit 0.1n $HClO_4$, Molverhältnis $c_{Cu}:c_{HsH}$ = 1:2; c_{Cu} (als $CuSO_4$) = $3.3 \cdot 10^{-3}$m.

schwerlöslicher 1:1-Komplex aus (zweiter Sprung). Bei pH < 4 (dritter Sprung) findet der Zerfall des schwerlöslichen grünen Komplexes in die Komponenten statt.

c) Komplextypen bei aromatischen und heteroaromatischen Aminohydroxamsäuren

Der tiefgrüne, wasserlösliche, zwischen pH 3 und 5 entstehende 1:1-Komplex (Methode von YOE und JONES) aus Anthranilhydroxamsäure (o-Amino-benzhydroxamsäure) und Kupfer(II)-Ionen zeigt λ_{max} = 615 nm bei pH 4.25 (Abb. 16). Erhöht man den pH-Wert mittels Natronlauge, so flockt oberhalb pH 6 ein dunkelbrauner Niederschlag aus, der nach dem Ergebnis der Elementaranalyse ebenfalls ein 1:1-Komplex ist, selbst wenn bei seiner Bildung ein Überschuß an Ligand vorliegt. Bruttozusammensetzung und Farbe sprechen eher für OH statt H_2O als weiteren Liganden.

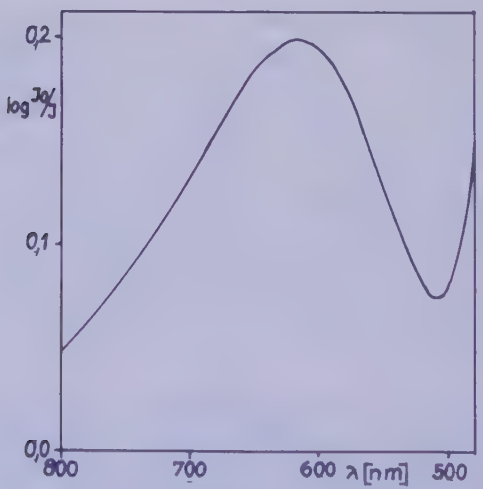


Abbildung 16

Elektronenspektrum des grünen 1:1-Kupfer(II)-Komplexes von Anthranilhydroxamsäure bei pH 4.22
Molverhältnis Ligand:Kupfer = 3:1; $c_{Cu} = 2 \cdot 10^{-3}$ m; Schichtdicke d = 1 cm.

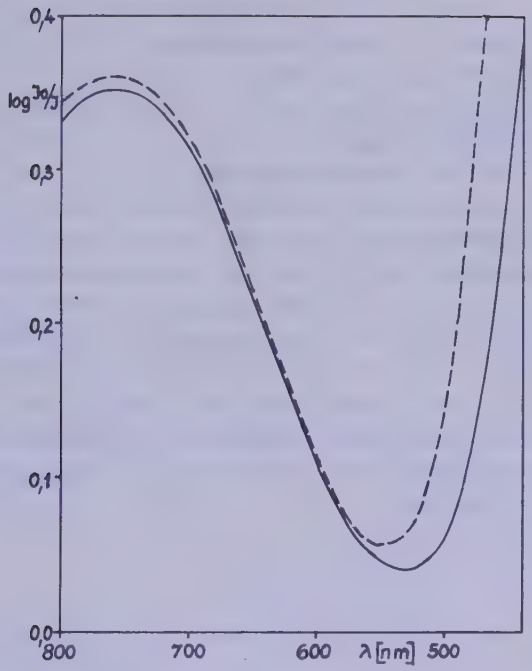


Abbildung 17

Absorptionsspektren der 1:1-Kupfer(II)-Komplexe von m- bzw. p-Amino-benzhydroxamsäure

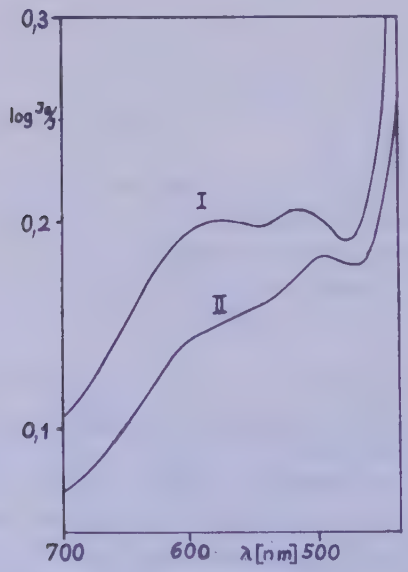
——— m-Amino-benzhydroxamsäure (pH 5.38)

---- p-Amino-benzhydroxamsäure (pH 5.20)

$c_{Cu} = 2.5 \cdot 10^{-3}$ m, Schichtdicke d = 5 cm.

Anders als ihr ortho-Isomeres, aber untereinander sehr ähnlich, verhalten sich m- und p-Amino-benzhydroxamsäure. Die Kupfer(II)-1:1-Komplexe (Methode nach JOB) sind bei pH 5 löslich und hellgrün mit wesentlich längerwelligen Maxima (λ = 756 bei pH 5.4 bzw. 755 nm bei pH 5.2; Abbildung 17). Der bei ansteigendem pH-Wert jeweils anfallende grüne Niederschlag, welcher im Falle der m-Verbindung isoliert und analysiert wurde, hat ebenfalls die Zusammensetzung 1:1 und enthält wahrscheinlich einen

Aquo-Liganden. Ab pH 11 tritt wieder Lösung und zwar mit gelbgrüner Farbe ein, wenn das Verhältnis Ligand:Kupfer mindestens 2:1 beträgt. Versucht man die Zusammensetzung nach YOE und JONES zu bestimmen, so erhält man beim Molverhältnis $\geq 2:1$ nur den waagrechten Kurventeil. Beim Molverhältnis $< 2:1$, aber gleichem pH-Wert, fällt der grüne 1:1-Komplex aus. Hieraus ist zu schließen, daß die grüngelben Komplexe die Zusammensetzung 2:1 haben werden. Ihre Elektronenspektren (Beispiel in Abb.18) weisen, ähnlich wie im Falle der Acethydroxamsäure (S. 44), einen breiten Absorptionsbereich mit zwei schwachen Maxima auf: 577, 514 nm bei pH 11.25 (m-Verbindung) und 585, 520 nm (Schulter) bei pH 11.06 (p-Verbindung). Erhöht man den Ligandenüberschuß, so nimmt das längerwellige Maximum in der Extinktion ab, das kürzerwellige aber zu (Abb. 18). Die Titrationskurve von m-Amino-benzhydroxamsäure mit 0.1n NaOH zeigt einen Verbrauch von vier Protonen an (Abb. 19, S.49). Die erste Stufe zwischen pH 4 und 5 entspricht dem mäßig löslichen, hellgrünen 1:1-Komplex, die zweite Stufe zwischen pH 10 und 11 der Bildung des leichtlöslichen, gelbgrünen 2:1-Komplexes.



I: $c_{Cu} = 1.10^{-3}$m/c_{HsH} = $2.25.10^{-3}$m (pH = 11.25) Molverhältnis = 1:2;

II: $c_{Cu} = 6.7.10^{-4}$m/c_{HsH} 67.10^{-4}m (pH = 11.38), Molverhältnis 1:10;

Schichtdicke d = 5 cm.

Abbildung 18. Absorptionsspektren des 2:1-Kupfer(II)-Komplexes der m-Amino-benzhydroxamsäure bei verschiedener Ligandenkonzentration

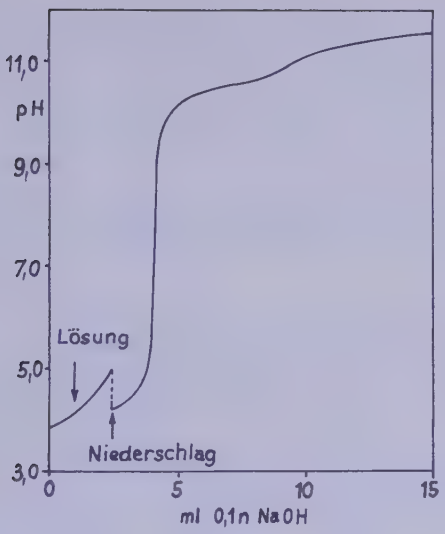


Abbildung 19

pH-Titrationskurve von Kupfer(II)-Ionen und m-Amino-benzhydroxamsäure in 0.1m $NaClO_4$

Titriert mit 0.1n NaOH, Molverhältnis $c_{Cu}:c_{HsH}$ = 1:2; c_{Cu} (als $CuSO_4$) = $3.3 \cdot 10^{-3}$m.

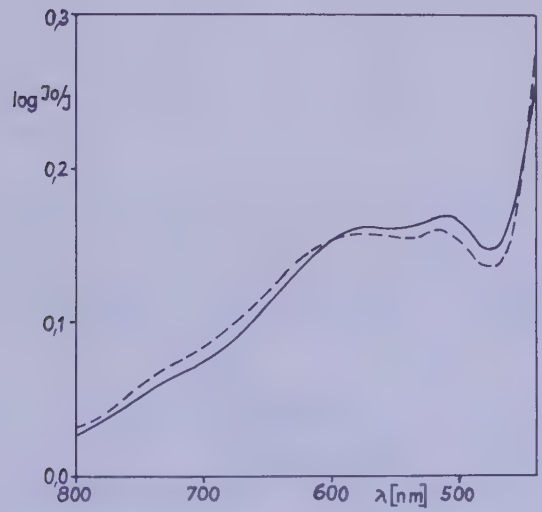


Abbildung 20

Absorptionsspektren des 2:1-Kupfer(II)-Komplexes der Benzhydroxamsäure bei verschiedener Ligandenkonzentration

--- $c_{Cu} = 8 \cdot 10^{-4}$m/$c_{HsH} = 16 \cdot 10^{-4}$m (pH 11.53), Molverhältnis 1:2

—— $c_{Cu} = 8 \cdot 10^{-4}$m/$c_{HsH} = 40 \cdot 10^{-4}$m(pH 11.61), Molverhältnis 1:5

Schichtdicke d = 5 cm.

ähnliche Elektronenspektren (Abb. 20, 21) wie die zuletzt genannten Kupfer(II)-Komplexe liefern ab pH 11 die 2:1-Komplexe von Benz- und Nicotinhydroxamsäure: λ_{max} = 575, 517 nm bei pH 11.5 (Benzhydroxamsäure) und 580, 520 nm bei pH 11.52 (Nicotinhydroxamsäure). Hier beeinflußt aber eine Erhöhung der Liganden konzentration die relative Bandenhöhe nahezu nicht (Abb. 20).

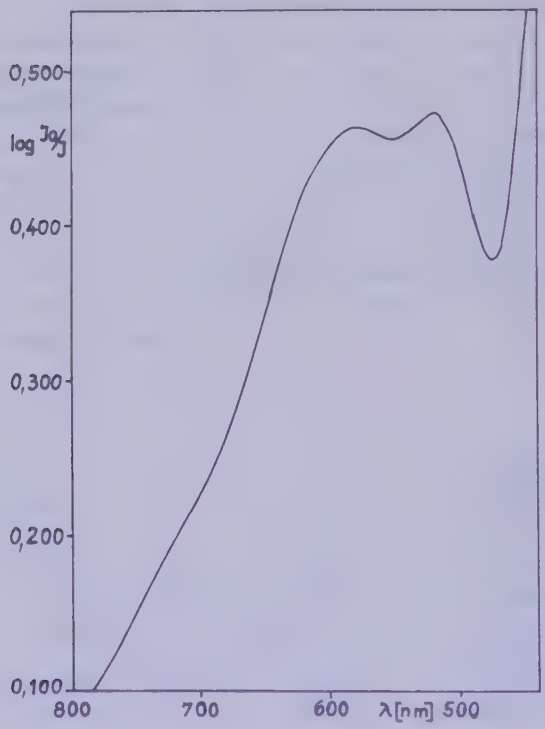


Abbildung 21

Absorptionsspektrum des 2:1-Kupfer(II)-Komplexes der Nicotinhydroxamsäure

$c_{Cu} = 2.5 \cdot 10^{-3}$m, pH = 11.52, Schichtdicke d = 5 cm.

3) Verhalten von Aminohydroxamsäuren gegenüber einwertigem Kupfer

Für diese Untersuchungen wählte man als Kupfer(I)-Verbindung den wasserlöslichen, farblosen, bei einem Überschuß an Acetonitril stabilen Komplex aus CuCl und CH_3CN. Als Liganden dienten Glycinhydroxamsäure und die Trishydroxamsäure Desferrioxamin B.

Vereinigte man eine wäßrige Glycinhydroxamsäure-Lösung mit einer äquimolaren Lösung von CuCl in Acetonitril (Molverhältnis Cu:Glycinhydroxamsäure = 1:3) bei Luftausschluß (Thunbergrohr unter O_2-freiem Stickstoff), so blieb die Lösung (pH 6.9) zunächst farblos, nahm aber dann rasch eine violette Farbe (λ_{max} = 537 nm) an. Der Verlauf des Elektronenspektrums änderte sich an Luft nicht. Die Lage von λ_{max} in einem Vergleichsspektrum einer $CuCl_2$/Acetonitril- + wäßr. Glycinhydroxamsäure-Lösung (Molverhältnis ebenfalls 1:3) war nahezu gleich (λ_{max} = 545 nm). Die Differenz könnte auf die Anwesenheit von kolloidal abgeschiedenem Kupfer, das langsam ausflockte, zurückzuführen sein. Jedenfalls hatte sich Cu^+ in dem wasserhaltigen System partiell zu Cu^{2+} und Cu^0 disproportioniert.

Entsprechend verlief der Versuch mit Desferrioxamin B in Tris-HCl-Puffer (5.10^{-3}m, pH 5.6) und der äquimolaren Lösung von CuCl in Acetonitril: Nach einem farblosen Intervall trat Grünfärbung ein. Auch hier zeigte das Vergleichsspektrum von $CuCl_2$ in Acetonitril + Desferrioxamin B bei pH 5.3 nur einen wenig längerwelligen λ_{max}-Wert (640 gegenüber 635 nm).

E. Diskussion der Ergebnisse

1) Eisen(III)-Komplexe und ihr biologisches Verhalten

a) Elektronenspektren und Ligandenfeld

Bei den 3:1-Komplexen von Eisen(III) und Hydroxamsäuren ohne sowie mit einem zusätzlichen N-Atom (α-NH_2, aromat. gebundenes NH_2, Hetero-N, >NH in Carbonamiden) liegt das Maximum der charakteristischen Absorption im sichtbaren Spektralbereich 9 - 34 nm längerwellig, wenn die aromatischen mit den aliphatischen bzw. cycloaliphatischen Liganden verglichen werden (Tab. 3, S.22). Die am weitesten langwellig verschobenen λ_{max}-Werte findet man beim p-Amino- und beim o-Amino-benzhydroxamato-Komplex (456 bzw. 448 nm). Dies läßt sich mit der Elektronendonator-Wirkung der o- bzw. p-ständigen NH_2-Gruppe erklären, was gegenüber dem Tris-[benzhydroxamato]-, dem Tris-[m-amino-benzhydroxamato]- und dem Tris-[nicotinhydroxamato]-eisen(III) (λ_{max} = 438 bzw. 436 bzw. 435 nm) durch Mesomeriestabilisierung eine Erhöhung der Elektronendichte in Richtung auf das Eisen bewirkt. Die Folge ist eine stärkere Wechselwirkung von dessen d-Elektronen mit den p-Elektronen des Liganden und damit eine Schwächung des Ligandenfeldes, die sich in der bathochromen Verschiebung von λ_{max} bemerkbar macht. Bei den 3:1-Eisen(III)-Komplexen mit aliphatischen bzw. cycloaliphatischen Liganden ist nur noch die Carbonamid-Mesomerie von Seiten der Hydroxamato-Gruppe wirksam. Der Ligandenfeldparameter Dq nimmt also gegenüber den aromatischen Liganden zu; das Ligandenfeld wird stärker und λ_{max} daher hypsochrom verschoben. Weder eine α-ständige NH_2-Gruppe (Glycinhydroxamato-Komplex; λ_{max} = 423 nm), noch deren Acylierung (Hippurhydroxamato-Komplex; λ_{max} = 425 nm) oder Verlegung einer weiteren Carbonamid-Gruppe in einen alicyclischen Ring [Pyrrolidon-(5)-α-carboyl-hydroxamato-Komplex; λ_{max} = 426 nm] bewirken wesentliche Änderungen des Ligandenfeldes gegenüber Tri-acethydroxamato-eisen(III) (λ_{max} = 422 nm).

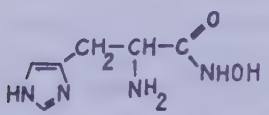
Bei den 1:1-Komplexen findet sich, verglichen mit den zugehörigen 3:1-Komplexen, stets eine bathochrome Verschiebung der Absorption im sichtbaren Spektralbereich von 70 - 80 nm (Tab.3, S. 22). Der Ersatz zweier Hydroxamato-Liganden durch anorganische Liganden (im vorliegenden Falle vor allem Cl und H_2O) muß

nach SCHLÄFER[106] mit einer erheblichen Schwächung des Ligandenfeldes verbunden sein, was die angegebene längerwellige Verschiebung des λ_{max}-Wertes beim Übergang vom 3:1- zum zugehörigen 1:1-Komplex erklärt. Bei den 1:1-Eisen(III)-komplexen aromatischer Hydroxamsäuren fällt auf, daß nahezu kein Unterschied in den λ_{max}-Werten im Falle von o-, m- und p-Amino-benz-hydroxamsäure sowie der NH_2-freien Verbindung als Ligand besteht (λ_{max} = 513 - 516 nm). Dies erklärt sich dadurch, daß mit der Protonierung der o- bzw. p-ständigen Aminogruppe die Mesomeriefähigkeit aufgehoben und diese Liganden damit dem protonierten m-Amino-benzhydroxamato- sowie dem Benzhydroxamato-Liganden angeglichen werden. Der Nicotinhydroxamato-eisen(III)-Komplex erfährt durch die Protonierung am Hetero-N eine hypsochrome Bandenverschiebung auf λ_{max} = 498 nm. Der Heteroring stellt also der Hydroxamatogruppe und somit dem Eisen keine Elektronen mehr zur Verfügung, so daß dieser 1:1-Komplex mit denjenigen der Acet- und der Hippurhydroxamsäure (λ_{max} = 500 bzw. 496 nm) vergleichbar wird. Im Falle des Glycinhydroxamato-eisen(III)-Komplexes (λ_{max} = 490 nm) und des entsprechenden 1:1-Komplexes mit dem Pyrrolidon-(5)-α-carboyl-hydroxamato-Liganden (λ_{max} = 492nm) bewirkt die Protonierung der α-NH_2-Gruppe bzw. die Carbonamid-Mesomerie der Lactam-Gruppierung einen schwachen Elektronenzug, der das Ligandenfeld etwas stärkt. Bei den 1:1-Komplexen der aromatischen Hydroxamsäuren wird dagegen das Ligandenfeld durch $p_\pi \longrightarrow d_\pi$-Bindungen geschwächt, so daß λ_{max} (mit Ausnahme beim Nicotinhydroxamato-Liganden) gegenüber den entsprechenden Komplexen der aliphatischen bzw. cycloaliphatischen Hydroxamsäuren bathochrom zu liegen kommt.

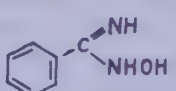
Daß die Absorption der 2:1-Hydroxamato-Komplexe, die nur im Gleichgewicht mit den 1:1- und den 3:1-Komplexen betrachtet werden können (Tab.3, S.22), zwischen λ_{max} letztgenannter Komplexe zu liegen kommt, erklärt sich leicht dadurch, daß hier gegenüber den 1:1-Komplexen ein weiterer Hydroxamato-Ligand hinzukommt. Die von BAYER und REUTHER[79] formulierte violettrote Dichloro-dibenzhydroxamato-eisen(III)-säure existiert nicht; es handelt sich vielmehr um einen 1:1-Komplex, wie aus dem angegebenen Elektronenspektrum, das λ_{max} = 520 - 540 nm (bei Überschuß von $FeCl_3$ in Methanol) aufweist, hervorgeht (vgl. den

λ_{max}-Wert 515 nm vom einwandfrei zu 1:1 bestimmten Benzhydroxamato-Komplex in wäßriger Lösung; Tab.3).

Die Histidinhydroxamsäure unterscheidet sich bei der Komplexierung von Fe(III)-Ionen gegenüber den voranstehend betrachteten "Aminohydroxamsäuren" dadurch, daß im pH-Bereich von 5 - 8 Elektronenspektren mit zwei Absorptionsbanden im sichtbaren Spektralbereich entstehen: λ_{max}= 630 und 525 nm bei pH 6.93 (Abb.2, S. 23), wodurch die Lösung blau erscheint. Die Komplexzusammensetzung ist zwar in diesem Fall noch nicht bestimmt worden, jedoch ist wahrscheinlich, daß zwei verschiedene 2:1-Komplexe vorliegen oder ein 3:1-Komplex besonderer Konstitution mit im Spiel ist. Bei Ligandenüberschuß (mehr als 3:1) nimmt nämlich die Extinktion der langwelligen Absorption zugunsten der kürzerwelligen ab. Bei pH-Werten unterhalb 5 findet man, auch bei Ligandenüberschuß, nur eine Absorptionsbande im sichtbaren Spektralbereich (λ_{max} = 466 nm bei pH 3.51; Abb.3, S.24); dieser rote Komplex hat die Zusammensetzung 1:1 (vgl.Abb.4, S.24).



Histidinhydroxamsäure



Iminobenzhydroxamsäure
(Benzamidoxim)

Ähnliche Verhältnisse wurden beim System Benzamidoxim (Iminobenzhydroxamsäure)/$FeCl_3$ gefunden: ASHWORTH und VENN[107] beobachteten hier in wäßriger Lösung bei Überschuß an Fe^{3+}-Ionen λ_{max} = 450 nm, in Dimethylsulfoxid aber 580 nm, ohne über die Zusammensetzung der Komplexe etwas auszusagen. Es ist demnach anzunehmen, daß bei der Histidinhydroxamsäure außer der Hydroxamato-Gruppe eines der Ringstickstoff-Atome an der Komplex-Bildung mit Eisen(III) teilnimmt. Dies wird von H.HÜBERS im Rahmen seiner Diplomarbeit weiter untersucht.

b) Thermodynamische Stabilität

In Tabelle 10 werden die log ß-Werte der Eisen(III)-Komplexe einfacher Hydroxamsäuren nach eigenen Messungen und Angaben aus der Literatur mit jenen verglichen, die in der vorliegenden Arbeit bei Aminohydroxamato-eisen(III)-Komplexen erhalten

Tabelle 10

Vergleich der log ß-Werte der thermodynamischen Stabilität von Hydroxamato- und Aminohydroxamato-eisen(III)-Komplexen in wäßrigen Systemen bei 20 - 22°

Werte in runden Klammern: nach SCHWARZENBACH[65], gemessen in wäßriger Lösung; Werte in eckigen Klammern: nach HOWSMON[80], gemessen in Dioxan/Wasser (1:1); übrige Werte: eigene Messungen in wäßriger Lösung (vgl.Tab.4,S.29 bzw.Tab. 6, S.31).

Hydroxamsäure	pK_a	log $ß_1$	log $ß_2$	log $ß_3$
Acet-	-	11.2	19.5	25.1
	(9.37)	(11.4)	(21.1)	(28.3)
	[10.4]	[10.2]	[18.9]	[27.3]
Phenylacet-	[10.3]	[9.96]	[18.4]	[26.2]
p-Methoxy-benz-	[10.1]	[10.0]	[18.5]	[26.0]
Benz-	-	11.0	19.6	26.0
	(8.79)	(11.1)	(19.4)	(27.8)
	[10.0]	[9.9]	[18.2]	[25.6]
o-Hydroxy-benz-[a]	[8.98]	[8.6]	[15.7]	[21.6]
p-Amino-benz-	9.03	11.0	19.6	25.6
o-Amino-benz-[b]	8.86	10.7	19.1	25.0
α-Amino-acet-[c]	9.17	10.7	19.0	24.4
m-Amino-benz-	8.65	10.7	18.6	23.7
Pyrrolidon-(5)-α-carboyl-	8.40	10.5	18.6	23.6
N-Benzoyl-glycin-[d]	8.72	10.4	18.6	23.4
Pyridoyl-(3)-[e]	8.14	9.6	16.8	21.5

a) Salicyl-, b) Anthranil-, c) Glycin-, d) Hippur-, e) Nicotinhydroxamsäure.

wurden. Auffallend ist die große Uniformität bei den einzelnen Komplextypen, d.h. der geringe Einfluß verschiedener Substituenten auf die Stabilität der Hydroxamato-Komplexe, deren Komplexzentren gleichartige Struktur haben müssen. Die in Gegenwart von Dioxan erhaltenen Werte von HOWSMON[80] liegen stets etwas tiefer als die in wäßriger Lösung erhaltenen. Die Unterschiede in den log $ß_3$-Werten zwischen den Angaben von SCHWARZENBACH[65] (potentiometrische Messungen) und den eigenen Befunden (spektrophotometrische Messungen) bei den Acet- und den Benzhydroxamato-eisen(III)-Komplexen dürften darauf zurückzuführen sein, daß beim

potentiometrischen Verfahren, anders als beim spektrophotometrischen, noch $Fe(OH)_2^+$- und weitere Hydroxo-eisen(III)-Ionen erfaßt werden. Hierauf deutet auch hin, daß bei den 1:1-Komplexen eine viel größere Übereinstimmung in den log β_1-Werten besteht.

Wie erwartet, sind die 3:1-Eisen(III)-Komplexe der Hydroxamsäuren am stabilsten, wobei sich nur eine geringe Stabilitätsverminderung bei zusätzlichem Aminostickstoff zeigt (Tab.10). Eine entsprechende Relation findet man in der Stabilität der 1:1-Komplexe mit den beiden Ligandentypen. Hiermit stimmt überein, wie aus den Elektronenspektren bei verschiedenen pH-Werten hervorgeht, daß das Gleichgewicht von 1:1- und 2:1-Komplex bzw. von 2:1- und 3:1-Komplex, angezeigt durch die isosbestischen Punkte (Tab.3, S.22), im Falle von Acet- und Benzhydroxamsäure als Liganden bei niedrigeren pH-Werten (ca. 1.5 bzw. 3.5 - 4.5) erreicht wird, als bei Glycin- und o- oder p-Amino-benzhydroxamsäure (pH ca. 2.2 - 2.5 bzw. 3.9 - 4.0). Einzig die Nicotinhydroxamato-eisen(III)-Komplexe fallen mit ihren niedrigeren ß-Werten heraus, was auf den besonders geringen pK_a-Wert des Liganden zurückgehen dürfte.

Will man die thermodynamischen Stabilitätskonstanten der Hydroxamato-eisen(III)-Komplexe (Tab. 10) mit denen von Fe(III)-Komplexen vergleichen, die andere organische Liganden tragen, so findet man bei Durchmusterung des entsprechenden Tabellenwerkes (Stability Constants)[108] nur die in Tabelle 11 verzeichneten, vergleichbaren log ß-Werte. Von 3:1-Komplexen (bezogen auf die Anzahl an Donorgruppen) sind dies solche mit Oxalsäure, Citronensäure, EDTA (Äthylendiamintetraessigsäure), dem Antibiotikum Hydroxytetracyclin und Acetylaceton als Liganden. Bei den in Tabelle 11 aufgeführten log β_1-Werten fällt auf, daß N-Phenyl-Substitution bei der Benzhydroxamsäure eine starke Stabilitätsverminderung im 1:1-Komplex bewirkt (log β_1 = 11.0 → 5.3), ferner, daß der Eisen(III)-1:1-Komplex der Oxaldihydroxamsäure nur log β_1 = 3.4 aufweist. Andererseits zeigen die Fe(III)-1:1-Komplexe von Glycin und Prolin log β_1-Werte, die nur um etwa eine Zehnerpotenz geringer sind als die von Glycin- und Pyrrolidon-(5)-α-carboyl-hydroxamato-eisen(III). Der vergleichsweise hohe log β_3-Wert (31)[65] des 3 Hydroxamato-Gruppen in einem Großring tragenden, natürlich vorkommenden Ferrioxamins B (vgl.S.6) ist ebenfalls in der Tabelle aufgeführt.

Tabelle 11. log ß-Werte verschiedener Eisen(III)-organo-Komplexe zum Vergleich mit den Werten von Tabelle 10

Ligand	log $ß_1$	log $ß_2$	log $ß_3$
Oxalsäure[109]	--	--	21.6
Hydroxytetracyclin[a),110]	--	--	22.5
Citronensäure[111]	--	--	25.0
EDTA[b),112]	--	--	25.0
Acetylaceton[113]	11.4	22.1	26.7
Desferrioxamin B[65]	--	--	31.0
N-Phenyl-benzhydroxamsäure[114]	5.3	--	--
Oxaldihydroxamsäure[115]	3.4	--	--
Glycin[116]	10.0	--	--
Prolin[117]	10.0	--	--

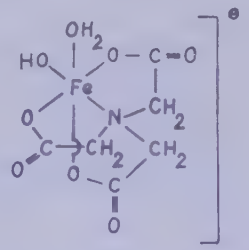
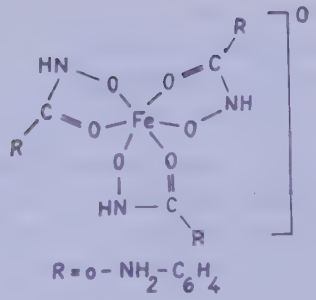
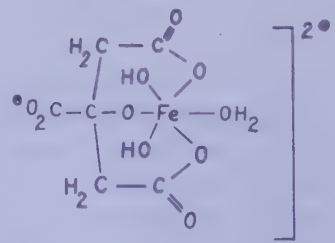
a) Antibiotikum Terramycin.- b) Äthylendiamintetraessigsäure.

c) Kinetische Stabilität

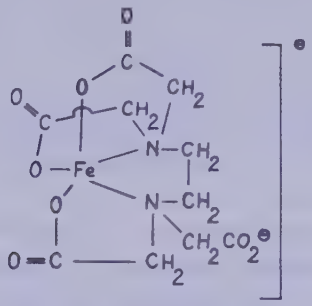
Es ist bekannt[118], daß die kinetische Stabilität von Eisen(III)-Komplexen, ausgedrückt durch die Geschwindigkeitskonstante oder die Halbwertszeit beim Austausch gegen andere Liganden, bei den d^2sp^3-Komplexverbindungen vom Typ $[Fe(CN)_6]^{3-}$ oder $[Fe(dip)_3]^{3+}$ mit anomalem magnetischem Verhalten groß, bei den magnetisch normalen sp^3d^2-Komplexen aber gering ist.

Im Hinblick auf den biologischen Eisenaustausch, den Aminohydroxamato-eisen(III)-Komplexe im Organismus der Ratte mit natürlichen Fe-Komplexbildnern erfahren (S.34), interessierte die Geschwindigkeit, mit der das Fe-Atom aus den 3:1-Komplexen genannten Typs im Blut (pH 7.4) auf das Eisen-Transportprotein Transferrin übertragen wird. Dieses bildet ein Proteino-di-eisen(III)-Dikation, welches im Falle von HCO_3^- als Anion eine thermodynamische Stabilität von log ß = 31[65] aufweist. Dabei wurde gefunden (Abb.7, S.33, Tab.7, S.32), daß Trianthranilhydroxamato-eisen(III) bei pH 7.4 ($NaHCO_3/CO_2$-Puffer) recht schnell, d.h. unter den gewählten Bedingungen innerhalb 25 Min., das Eisen vollständig auf das Transferrin überträgt. Es wird dort in die beiden Metall-bindenden Zentren, die wahrscheinlich Hydroxamatogruppen tragen[100], eingebaut. Während sich Trinicotinhydroxamato-eisen(III) gegenüber Transferrin analog verhält, wurde aus

dem Trihydroxamato-eisen(III)-Großring-Chelat Ferrioxamin B auch nach 7stündiger Inkubation noch kein Fe im Transferrin gefunden (Abb. 7b, S.33). Vergleicht man diese Ergebnisse mit jenen, die SALTMAN und Mitarbb.[97] bei den 1:1-Eisen(III)-Komplexen von Citronensäure, Nitrilotriessigsäure und Äthylendiamintetraessigsäure (EDTA) gegenüber Transferrin erhalten haben, so ergibt sich folgende Reihe zunehmender kinetischer Stabilität (Austauschgewschwindigkeit bei pH 7.4):

Ligand	Fe(III)-Komplex	Thermodynam. Stabilität	„Kinetische Stabilität"
Nitrilotriessigsäure (NTA)		log ß = 23 (Lit.[119])	t = 5 Sek.
o-Amino-benz-(Anthranil)-hydroxamsäure		log $ß_3$ = 25 (Tab.10,S.55)	t = 21 Min.
Citronensäure		log $ß_1$ = 25 (Tab.11, S.57)	t = 20 Stdn.

(Forts. von S.58)

Ligand	Fe(III)-Komplex	Thermodynam. Stabilität	„Kinetische Stabilität"
EDTA		log ß = 25 (Tab.11,S.57)	t/2 = 4 Tage
Desferri-oxamin B	Ferrioxamin B (Formel S.6)	log ß = 31 (Tab.11,S.57)	t ≫ 7 Stdn.

In Übereinstimmung mit SALTMAN[97] läßt sich schließen, daß die kinetische Stabilität der betrachteten Eisen(III)-organo-Komplexe nicht nur durch die thermodynamische Stabilität bestimmt wird und auch nicht allein von der Ladung abhängt. Vielmehr müssen sterische Verhältnisse maßgebend sein, die sich in der mehr oder weniger großen "Umhüllung" des Zentralatoms durch Liganden äußern und bei vielzähnigen Komplexbildnern besonders hervortreten. Das wird vor allem beim Herantreten der verschiedenen Fe-Komplexe an das Transferrin von Bedeutung sein, wobei primär durch Ligandenverdrängung ein "Eisen(III)-Mischchelat" mit Transferrino- und bereits vorhandenen Organo-Liganden auftreten sollte (vgl. hierzu auch SALTMAN[97,120,121]).

d) Eisendonator-Wirkungen

Wie aus den eigenen Versuchen (Tab.8,S.35; Tab.9,S.36) und früheren Beobachtungen (S.34) hervorgeht, geben die Tris-[aminohydroxamato]-eisen(III)-Komplexe nach intravenöser Injektion an der Ratte ihr Eisen, das als radioaktives Isotop ^{59}Fe vorlag, in vivo ab. Es wird 1 Stde. nach der Verabreichung bevorzugt im Serum, dann im Knochenmark, wenig in der Leber und

noch kaum in den Erythrocyten gefunden (Tab.12). Hieraus ist zu schließen, daß 1) die Aminohydroxamato-eisen(III)-Komplexe recht hydrolysestabil sind, weil sonst das Eisen bei pH 7.3 (Blut) bevorzugt als Oxidhydrat ausgeschieden und in der Leber teils im Ferritin, teils als Hämosiderin abgelagert würde; 2) rascher Fe-Austausch mit Transferrin erfolgen muß (was in vitro nachgewiesen wurde; S.32), welches das Metall zum Knochenmark transportiert und 3) daß hier bereits sein Einbau ins Protoporphyrin begonnen hat, da es schon in den Erythrocyten erscheint.

Tabelle 12. ^{59}Fe-Verteilung mit der Zeit auf Blut und Organe der Ratte nach i.v.-Verabreichung von $^{59}FeCl_3$ und Triaminohydroxamato-eisen(III)-Komplexen-[^{59}Fe] (Fe:Ligand = 1:20) in wäßriger Lösung

$^{59}FeCl_3$: bei pH 2; ^{59}Fe-Organokomplexe: bei pH 6 - 7.

Fe(III)-Komplex (1:3) von	% ^{59}Fe wiedergefunden nach 1 Stde.(I) bzw. 7 Tagen (II) in:									
Hydroxamsäure	Serum		Leber		Knochenmark		Muskulatur		Erythrocyten	
	I	II	I	II	I	II	I	II	I	II
Glycin-	32	-	9	-	24	-	-	-	7	-
Hippur-	29	0	7	8	26	4	-	-	8	60
p-Amino-benz-	34	0	7	10	25	4	-	-	4	64
Nicotin-	23	-	12	-	22	-	-	-	11	-
Pyrrolidon-(5)-α-carboyl-	12	-	15	-	30	-	-	-	7	-
Histidin-	17	0	4	8	25	4	67	43	3	49
$FeCl_3$ (pH 2)	31	0	9	11	21	4	-	-	2	61

Die höheren relativen Leber-Werte beim Nicotin- und Pyrrolidon-(5)-α-carboyl-hydroxamato-Komplex kommen durch die fehlende Berücksichtigung ihres Blutgehaltes zustande, die niederen Werte im Serum bei letzterem und dem Histidinhydroxamato-Komplex deuten auf eine raschere Mobilisierung zugunsten des Knochenmarks bzw. der Muskulatur hin. 7 Tage später finden sich 2/3 des verabreichten Gesamteisens in den Erythrocyten, die es aus dem Serum über das Knochenmark, welche jetzt beide kein oder fast kein

^{59}Fe mehr enthalten, erhalten haben, während die Leber nahezu unbeteiligt erscheint. Im Falle des Histidinhydroxamato-Komplexes kann der geringere Wert in den Erythrocyten dadurch bedingt sein, daß relativ viel ^{59}Fe in der Muskulatur (Myoglobin ?) festgehalten wird. Die Abnahme im Muskel gegenüber dem 1-Stunden-Versuch deutet darauf hin, daß hier wohl der Histidinhydroxamato-Komplex primär selbst gespeichert werden kann, dann aber durch Zerlegung des Liganden unter Histidin-Bildung sein Eisen transportierbar freigibt. Dies wäre am Schicksal der ^{14}C- oder ^{15}N-markierten Aminohydroxamsäure-Liganden zu prüfen.

Da sich $^{59}FeCl_3$, in saurer Lösung (pH = 2) injiziert, in der zeitlichen Verteilung auf Blut und Organe der Ratte ähnlich wie die Aminohydroxamato-eisen(III)-Komplexe verhält, besteht deren Vorteil für eine Eisen-Therapie, z.B. bei Anämien, hauptsächlich darin, daß hier neutrale, wäßrige Lösungen injiziert werden können. Injiziert man nämlich $^{59}FeCl_3$ in wäßriger Lösung vom pH 4.6, so ist die hydrolytische Bildung von Eisenoxidhydrat rascher als der Fe(III)-Einbau ins Transferrin, weshalb in diesem Falle nach 1 Stde. bereits 70% des ^{59}Fe in der Leber festgehalten und nur sehr langsam remobilisiert werden[83]. Das ist für eine Anämie-Behandlung unvorteilhaft, da anämische Ratten, wie RUMMEL und Mitarbeiter[73] gezeigt haben, viel schneller angebotenes Eisen aufnehmen als normale Tiere, was sich bereits bei in vitro-Versuchen an Reticulocyten-reichem Blut, d.h. von anämischen Tieren zeigt. Hier können die Vorstufen der Erythrocyten erhebliche Mengen als Organo-Komplex angebotenes Eisen unter Umgehung des Knochenmarks aufnehmen, das sich dann in ihrer Häm-Komponente wiederfindet[122].

Insgesamt gesehen entspricht die Uniformität der Eisen(III)-Komplexe von Aminohydroxamsäuren als Eisen-Donatoren ihrer Gleichartigkeit in der thermodynamischen und, soweit gemessen, in der kinetischen Stabilität.

2) Kupfer-Komplexe

a) Cu(II)-Komplexe

Während Eisen(III) zur Koordinierung mit Sauerstoff als Donor-Atom neigt und mit Hydroxamsäuren gegenüber anderen 3wertigen Ionen die stabilsten Komplexe bildet[66], ist das Bestreben

von 2wertigem Kupfer, das Stickstoff als Donor-Atom bevorzugt, mit der Hydroxamato-Gruppe zu komplexieren, viel geringer, da es hier über Sauerstoff koordiniert werden muß. Trotzdem sind die Kupfer(II)-Komplexe gegenüber denen aller sonst geprüften 2wertigen Kationen die stabilsten[123]. Dies zeigt sich auch am spektralen Verhalten: Die Lösungen von Hydroxamato-eisen(III)-Komplexen sind intensiv farbig; 1:1-Komplexe bilden sich schon bei pH-Werten unterhalb 1. Hydroxamato-kupfer(II)-Komplexe zeigen demgegenüber bei gleicher Konzentration ihrer wäßrigen Lösungen eine viel geringere Extinktion; außerdem sind diese Komplexe unterhalb pH 3 vollständig zerfallen.

Tabelle 13. λ_{max}-Werte der in Wasser löslichen und Farbe der schwerlöslichen Hydroxamato-kupfer(II)-Komplexe

Die λ_{max}-Werte beziehen sich, soweit nicht anders angegeben, auf das Molverhältnis $c_{Cu}:c_{HsH}$ = 1:1 bzw. 1:2. Die Zahlen in Klammern geben die pH-Werte an, bei denen die Spektren aufgenommen wurden.

Hydroxamsäure	λ_{max} bzw. Farbe beim Komplextyp 1:1 (pH-Wert)	2:1 (pH-Wert)
Glycin-	655 (4.93)	554 (9.12)
Hippur-	grasgrüner Niederschlag	520 (>12)[b]
Pyrrolidon-(5)-α-carboyl-	grasgrüner Niederschlag	568 (11.38)
Acet-	grüner Niederschlag	585, 527[S] (>12)[c]
o-Amino-benz-(Anthranil)-	615 (4.22)[a] dunkelbrauner Niederschlag (>6)	---
m-Amino-benz-	756 (5.38)	577, 514 (11.25)
p-Amino-benz-	755 (5.20)	583, 510[S] (11.06)[d]
Benz-	hellgrüner Niederschlag	575, 517 (11.53)
Nicotin-	blaugrüner Niederschlag	580, 520 (11.52)

a) Molverhältnis $c_{Cu}:c_{HsH}$ = 1:3.- b) Molverhältnis $c_{Cu}:c_{HsH}$ = 1:4.- c) Molverhältnis $c_{Cu}:c_{HsH}$ = 1:5.- d) Molverhältnis $c_{Cu}:c_{HsH}$ = 1:3.

Eine Übersicht der gefundenen λ_{max}-Werte im sichtbaren Spektralbereich bei den angegebenen pH-Werten sowie die Zusammensetzung und das Lösungsverhalten der aufgefundenen Hydroxamato-kupfer(II)-Komplexe zeigt Tabelle 13. Hieraus geht zunächst

hervor, daß mit Kupfer(II)-Ionen bei pH-Werten um 4.5 ausschließlich 1:1-Komplexe von grüner Farbe resultieren, die sich unter vergleichbaren Bedingungen teils als wasserlöslich, teils als schwerlöslich erwiesen, während im stark alkalischen Bereich mit einer Ausnahme 2:1-Komplexe entstehen, die rotviolette, blauviolette oder gelbgrüne Farbe haben.

In das Studium der wasserlöslichen Hydroxamato-kupfer(II)-1:1- und -2:1-Komplexe sind auch deren UV-Spektren (λ = 380 bis 200 nm) einbezogen worden. Die gefundenen λ_{max}-Werte sind in Tabelle 14 zusammengestellt, die auch die zugehörigen Werte der Liganden-Anionen enthält. Sie werden bei den folgenden Betrachtungen der einzelnen Aminohydroxamato-kupfer(II)-Komplexe näher diskutiert.

Tabelle 14. λ_{max}-Werte von Hydroxamato-kupfer(II)-Komplexen und ihren Liganden-Anionen zwischen 380 und 200 nm bei pH $<$ 7 (1:1-Komplexe) bzw. pH $>$ 11 (2:1-Komplexe)

[S] bedeutet Schulter.

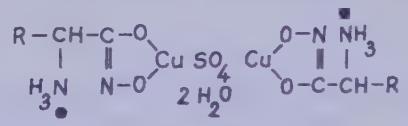
Hydroxamsäure	λ_{max}-Werte in wäßr. Lösung von 1:1-Komplex (pH)	2:1-Komplex (pH)	Ligand*)
Glycin-	338, 261[S] (5.0)	263, 203 (7.3)	unterhalb 200
Pyrrolidon-(5)-α-carboyl-	schwerlöslich	302[S], 213 (11.4)	unterhalb 200
o-Amino-benz-	257[S] (5.5)	-- --	296, 233[S]
m-Amino-benz-	280[S], 213 (5.4)	271[S], 232[S], 211 (10.9)	276, 232[S], 203
p-Amino-benz-	282 (5.2)	281 (11.2)	273
Nicotin-	schwerlöslich	280, 236 (11.4)	272, 236

*) Die zugehörigen molaren Extinktionen sowie λ_{max} und ε_{max} der undissoziierten und der protonierten Aminohydroxamsäuren finden sich im experimentellen Teil (Tab.16, S. 79).

Wichtig für die Löslichkeit der Kupfer(II)-1:1-Komplexe mit Aminohydroxamsäuren erscheint eine zur Hydroxamsäure-Gruppierung α- oder ortho-ständige Aminogruppe, die an der Komplexbildung teilnehmen kann. Bei α-Aminohydroxamsäuren ist, wie z.B. an der Glycinhydroxamsäure gezeigt wurde, der 2:1-Komplex-Typ über einen weiten pH-Bereich existent, während der grüne 1:1-Komplex

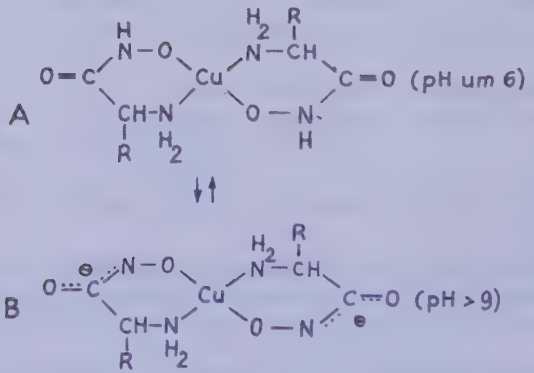
nur innerhalb eines eng begrenzten pH-Intervalls bei Ligandenüberschuß und nicht zu geringer Konzentration der Lösung stabil ist. Ein analoges Verhalten haben WIELAND und FRITZ[102] bei anderen α-Aminohydroxamsäuren als Cu(II)-Liganden beobachtet.

BIELIG und DELL[75] stellten für die isolierten grünen 1:1-Komplexe von Glycin- und Alaninhydroxamsäure sowie die violetten 2:1-Komplexe von Glycin-, Alanin- und Leucinhydroxamsäure auf Grund der Bruttoformeln und der IR-Spektren, in denen zwar die 1:1-, nicht aber die 2:1-Komplexe Ammonium-Struktur zeigen, folgende Formeln auf:



R=H: Glycinhydroxamsäure

$R=CH_3$: Alaninhydroxamsäure



R=H: Glycinhydroxamsäure

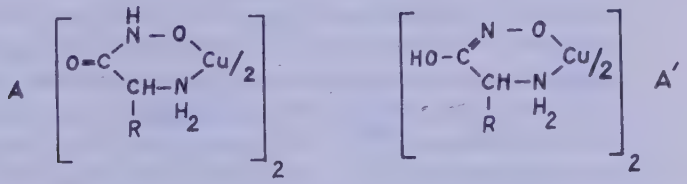
$R=CH_3$: Alaninhydroxamsäure

$R=CH_2\,CH(CH_3)_2$: Leucinhydroxamsäure

Diese Formeln stimmen mit den eigenen Ergebnissen der pH-Titration für das System Glycinhydroxamsäure/$CuSO_4$ gut überein. Der violette 2:1-Komplex bildet sich erst, wenn die Protonierung am Stickstoff aufgehoben wird. Die danach mögliche Einbeziehung des Amino-N in die Koordination bringt es mit sich, daß im neutralen Milieu die Hydroxam-Struktur A entsteht. Erst im stark alkalischen Milieu (oberhalb pH 9) werden zwei weitere Protonen abgegeben. Der längerwellig absorbierende zweite 2:1-Komplex erweist sich also als Di-Anion B des ersteren.

Beträgt das Molverhältnis α-Aminohydroxamsäure:Kupfer genau 1:1, so fällt nach Neutralisation des am Aminostickstoff gebundenen Protons ein 1:1-Komplex aus, der Hydroxo-Gruppen als weitere Liganden enthalten dürfte. Acethydroxamsäure, das Aminogruppen-freie Analogon der Glycinhydroxamsäure, bildet unmittelbar einen schwerlöslichen grünen Kupfer(II)-1:1-Komplex, da die Protonierung am Stickstoff entfällt.

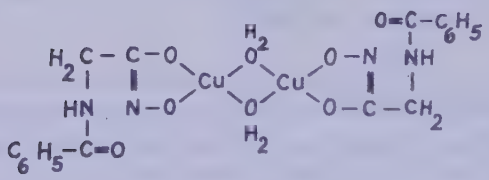
Beim System Kupfer(II)/Glycinhydroxamsäure sind die UV-Maxima gegenüber den unterhalb 200 nm liegenden der dissoziierten Liganden einwandfrei bathochrom verschoben. Das kurzwellige UV-Maximum (203 nm) des Diglycinhydroxamato-kupfers(II) entspricht der Carbonyl-Bande des Liganden, so daß in neutraler Lösung die Hydroxam-Form A vor der Hydroxim-Form A' den Vorzug verdient. Beim 1:1-Komplex, der keine C=O-Gruppe mehr enthält (S.64), fehlt diese Bande. Das beim 2:1-Komplex gefundene Maximum bei 263 nm könnte durch den koordinativ gebundenen Aminostickstoff verursacht sein.



Das Maximum des 1:1-Kupfer(II)-Komplexes der Glycinhydroxamsäure bei 338 nm – beim 2:1-Komplex offenbar durch den steilen Anstieg der Absorptionskurve zum Maximum bei 263 nm verdeckt – rührt wohl vom Kupfer her. MORPURGO und WILLIAMS[124] geben nämlich für Kupfer(II)-Komplexe von Peptiden (Biureten) ein Maximum

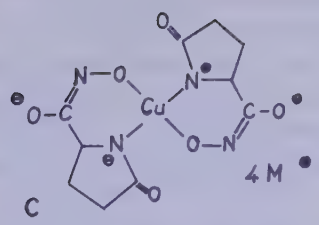
zwischen 310 und 350 nm an; sie vermuten, daß es durch eine verbotene Charge-transfer-Bande verursacht wird. In diesem Zusammenhang interessiert, daß Oxyhämocyanin ebenfalls ein breites Maximum bei ungefähr 350 nm[13] besitzt, das durch Kupfer verursacht wird[125].

Ist wie bei Hippur- und Pyrrolidon-(5)-α-carboyl-hydroxamsäure die Protonierungsfähigkeit des α-Aminostickstoffs durch Carbonamid-Mesomerie aufgehoben, so fällt der 1:1-Komplex ebenfalls schwerlöslich an. Nach der Bruttozusammensetzung $CuC_9H_8N_2O_3 \cdot H_2O$ des bei der Hippurhydroxamsäure isolierten Komplexes ist auf die folgende dimere Struktur zu schließen, wenn man nicht die Koordinationszahl 3 für das Kupfer in der festen Substanz annehmen will.



1:1-Komplex, grün, in Wasser schwerlöslich

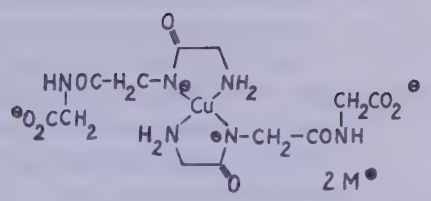
Wählt man den Überschuß an Ligand so, daß das Molverhältnis zum Kupfer in Lösung 2:1 ist, so lösen sich die zunächst entstehenden grünen Niederschläge der 1:1-Komplexe bei pH-Werten von 11 bis 12 durch Übergang in den rotvioletten (Hippurhydroxamsäure) bzw. blauvioletten (Pyrrolidon-(5)-α-carboyl-hydroxamsäure) 2:1-Komplex wieder auf. In der stark alkalischen Lösung des 2:1-Komplexes mit Pyrrolidon-(5)-α-carboyl-hydroxamsäure dürfte das nachstehende Komplex-Anion C vorliegen, das, wie der analog formulierte 2:1-Komplex aus Kupfer(II) und Biuret-Verbindungen[126], blauviolett ist. Die Schulter im UV-Spektrum bei 302 nm (Tab. 14, S.63) könnte deshalb der Kupfer-Bande der Peptido-kupfer(II)-Komplexe bei 310 - 350 nm entsprechen. Sie ist durch Abdissoziieren des Protons hypsochrom verschoben, da – im Gegensatz zu einem Peptid – keine Aminogruppe, die als weiterer Ligand an das Kupfer herantreten könnte, vorhanden ist. Die Schulter bei 213 nm kann sowohl durch ≥C=O als auch durch ≥C=N- (tautomere Form) verursacht sein (vgl.S. 65).



C

2:1-Komplex

blauviolett
(λ_{max} = 568 nm)
bei pH 11.2

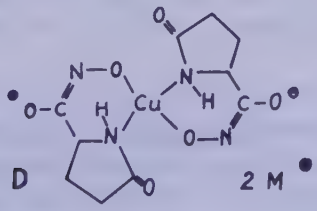


"Diglycylglycin-biuret"[126]

2:1-Komplex

blauviolett
(λ_{max} = 550 nm)
bei pH 11.3

Für den bei der pH-Titration im Gebiet von pH 10 aufgefundenen dunkelgrünen 2:1-Komplex mit dem alicyclischen Liganden wird dann das Anion D wahrscheinlich, wobei die bathochrome Verschiebung, gegenüber dem gleichfalls mit koordiniertem (allerdings primärem) Stickstoff formulierten 2:1-Komplex der Glycinhydroxamsäure, durch die Carbonamid-Mesomerie bewirkt werden könnte. DOBBIE und KERMACK[126] finden beim System Diglycylglycin/Kupfer(II) ebenfalls noch einen grünen 2:1-Komplex (λ_{max} = 620 nm bei pH 6.8).



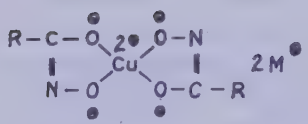
D

2:1-Komplex

dunkelgrün
(λ_{max} = 600 nm)
bei pH 9.6

Daß das Proton vom Carbonamid-N der Hippurhydroxamsäure bei der Bildung des rotvioletten, erst oberhalb pH 12 entstehenden 2:1-Kupfer(II)-Komplexes schwerer als bei Pyrrolidon-(5)-α-carboyl-hydroxamsäure abgespalten wird, muß mit der unterschiedlichen Konstitution der beiden Verbindungen zusammenhängen. Jedenfalls ist die Proton-Eliminierung vom N-substituierten Carbonamid-N bei der Komplexbildung von Kupfer mit Peptiden und

ähnlichen Verbindungen her bekannt[126,127]. Intensiv bearbeitet wurden ferner Kupfer(II)-Komplexe von Bisamiden[128-130], die ebenfalls in der Lage sind, den Carbonamid-Stickstoff zur Bindung von Kupfer(II) heranzuziehen. Für dessen Beteiligung an der Bildung der violetten Komplexe von Pyrrolidon-(5)-α-carboyl- und Hippurhydroxamsäure sprechen aber noch weitere Befunde: Hydroxamsäuren ohne α-ständige Aminogruppe (Acet-, Benz-, m- und p-Aminobenzhydroxamsäure sowie Nicotinhydroxamsäure) bilden nämlich bei pH 11-12 ebenfalls lösliche, aber grüngelbe 2:1-Komplexe. Ihnen muß demnach ein eigener (dritter) Strukturtyp zugrunde liegen, für den die folgende Formulierung verbleibt:



2 M

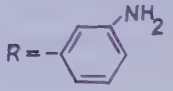
2:1 - Komplexe

grüngelb, löslich

(λ_{max} - Werte in Tab. 8)

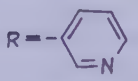
R = $-CH_3$ Acethydroxamsäure

R = $-C_6H_5$ Benzhydroxamsäure



m - Amino - benz = hydroxamsäure

p - Amino - benz = hydroxamsäure



Nicotinhydroxamsäure

Der angegebene Strukturtyp entspricht jenem des Bis-[thioacethydroxamato]-nickels(II), das aufgrund der Röntgenstrukturanalyse[131] Chelat-Fünfringe mit O- und S-Donoratomen sowie partiellen Doppelbindungscharakter in den C⋯S- und den N⋯C-Bindungen aufweist. Untersuchungen der Röntgenstruktur geeigneter, voranstehend beschriebener Aminohydroxamato-kupfer(II)-Komplexe stehen noch aus.

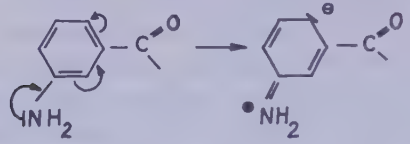
Auffallend ist das Vorkommen von zwei flachen Absorptionsbanden bei den löslichen 2:1-Kupferkomplexen der Acet-, Benz-, m- und p-Aminobenz- sowie Nicotinhydroxamsäure (vgl. Abb.13, 18, 20 und 21, S. 43, 48, 49 und 50). Dies könnte auf eine starke

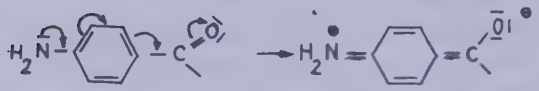
tetragonale Verzerrung des Koordinationsoktaeders hindeuten, wie es SCHLÄFER[132] für den Hexaharnstoff-Komplex des 3wertigen Titans annimmt, der im Reflexionsspektrum Maxima bei 610 und 550nm zeigt. Bei einem Kupfer(II)-Komplex des Polymyxins B fand BRINTZINGER[127] ebenfalls ein Spektrum mit Doppelbande. Einen Übergangstyp vom Spektrum mit einem breiten Maximum (2:1-Komplex der Glycinhydroxamsäure, Abb. 10, S.41) zu demjenigen mit zwei flachen Maxima (S. 68) stellt das Spektrum des 2:1-Komplexes der Hippurhydroxamsäure dar; die ziemlich breite Absorptionsbande erweist sich hier bereits als asymmetrisch. Ein Analogiefall liegt beim Titan(III)-sulfat in wäßriger Lösung vor; als Ursache wird eine tetragonale Verzerrung des Titan(III)-hexaquo-Ions angesehen[133].

Die 1:1-Komplexe der genannten Hydroxamsäuren ohne α-ständige Aminogruppe müssen vom Typ des 1:1-Komplexes der Hippurhydroxamsäure (S.66) sein, da sie, mit Ausnahme von m- bzw. p-Amino-benzhydroxamsäure und (bedingt) bei Nicotinhydroxamsäure als Liganden, schwerlöslich sind. Die relativ gute Wasserlöslichkeit der letztgenannten Cu(II)-1:1-Komplexe ist auf eine Protonierung der Aminogruppe zurückzuführen; beim Neutralisieren fallen diese Komplexe aus, was sich auch bei der pH-Titration in einer Inhomogenität nach Eliminierung von mehr als einem Proton zeigt (vgl. Abb. 19, S. 49).

Wie erwartet, zeigt bei der m- und p-Amino-benzhydroxamsäure der 1:1-Komplex im UV-Spektrum gegenüber dem freien Liganden-Anion eine bathochrome Verschiebung der ersten Elektronenübergangsbande (Elektronenübergang innerhalb des Liganden). Beim 2:1-Kupfer(II)-Komplex der m-Amino-benzhydroxamsäure findet man (wie beim 1:1-Komplex) diese Bande nur noch als Schulter ausgebildet; sie tritt aber (anders als beim 1:1-Komplex) mit λ = 271 nm gegenüber dem Liganden-Anion (λ_{max} = 276 nm) hypsochrom verschoben auf. Beim 2:1-Komplex der para-Amino-benzhydroxamsäure ist die entsprechende Bande dagegen ausgeprägt und bathochrom (276 → 281 nm) verschoben. Dies dürfte damit zusammenhängen, daß zwar in beiden Fällen die nicht in die Komplex-Bildung einbeziehbare

NH_2-Gruppe ein p-Elektron auf den aromatischen Ring, aber nur im letzteren Falle weiter auf den Carbonyl-Sauerstoff der Hydroxamatogruppe übertragen kann:





Dies würde auch die gegenüber dem 2:1-Komplex der m-Amino-Verbindung längerwellige Lage des UV-Maximums beim entsprechenden Komplex des para-Isomeren (281 gegenüber 271 nm) erklären, da die Elektronendichte am Carbonyl-Sauerstoff erhöht, die Komplexbildung mit dem Kupfer also begünstigt wird.- Das im Falle des m-Amino-benzhydroxamato-Liganden beim 1:1- sowie beim 2:1-Cu(II) Komplex beobachtete UV-Maximum bei 213 bzw. 211 nm, das gegenüber dem Liganden-Anion bathochrom verschoben liegt (Tab.14, S. 63) kann nur der C=N-Gruppe zukommen. Diese ist bereits beim Liganden vorhanden, wie das IR-Spektrum (Abb.22) mit der C=N-Bande bei 1639 cm^{-1} zeigt.

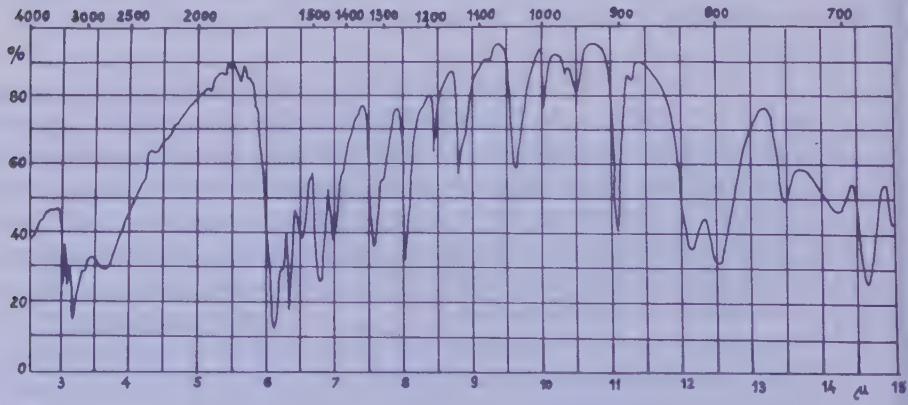
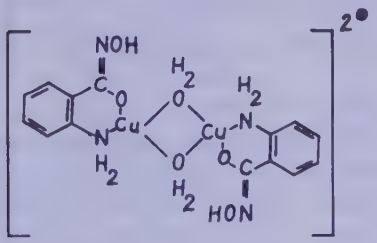


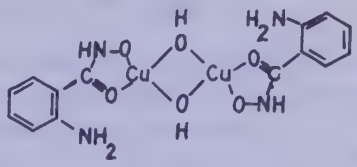
Abbildung 22. IR-Spektrum der m-Amino-benzhydroxamsäure in KBr

Beim 2:1-Kupfer(II)-Komplex der Nicotinhydroxamsäure beobachtet man ebenfalls, daß die langwellig gelegene UV-Bande des komplex gebundenen gegenüber dem freien Liganden (Anion) von 272 auf 280 nm verschoben ist. Da eine zweite Bande sowohl beim freien Liganden als auch im Komplex bei 256 nm erscheint, muß diese durch eine lokale Erregung des Pyridin-Kernes verursacht sein ($\pi \longrightarrow \pi^*$-Übergang).

Eine Sonderstellung nimmt die o-Amino-benzhydroxamsäure (Anthranilhydroxamsäure) ein. Neben dem erwarteten grünen, mäßig wasserlöslichen 1:1-Komplex existiert ein zweiter Komplex derselben Zusammensetzung, der aber dunkelbraun und in Wasser und Alkalien unlöslich ist. Beim grünen 1:1-Komplex ist die Amino-Gruppe wohl an der Komplex-Bildung beteiligt, was die stark hypsochrome Verschiebung des λ_{max}-Wertes im sichtbaren Spektralgebiet gegenüber den entsprechenden Kupfer(II)-Komplexen vom meta-Isomeren bzw. para-Isomeren (756 bzw. 755 $\longrightarrow$ 615 nm) erklären würde.



1:1-Komplex, grün
(λ_{max} = 615 nm)
mäßig löslich



1:1-Komplex, dunkelbraun
schwerlöslich

Formuliert man diesen 1:1-Komplex, wie hier geschehen, dimer mit zwei Aquo-Liganden als Brücke, so kann noch jeweils ein Proton abgespalten werden. Der dabei entstehende dunkelbraune 1:1-Komplex hat die Bruttozusammensetzung $CuC_7H_7N_2O_2 \cdot OH$. Die Anwesenheit des Hydroxo-Liganden würde die Unlöslichkeit in Wasser, die angegebene dimere Formulierung auch diejenige in Alkalien erklären. Das IR-Spektrum (Abb. 23a, S. 72) entspricht im entscheidenden Bereich (1200 - 1800 cm^{-1}), wo sich Banden bei 1260, 1340 (NH_2, aromat.), 1435 (aromat., o-disubstit.), 1534 (Amid-II),

1597 (Amid-I) und 1515, 1565 cm^{-1} (aromat.Ring) finden, nahezu völlig dem des Kalium-anthranilhydroxamates (Abb.23b), für das auch nach MATHIS[74] als sicher gelten darf, daß es die aromatisch gebundene CO-NH-O-Gruppe[75] enthält, wie dies analog für die Bindung des Kupfers im dunkelbraunen Komplex formuliert wurde.

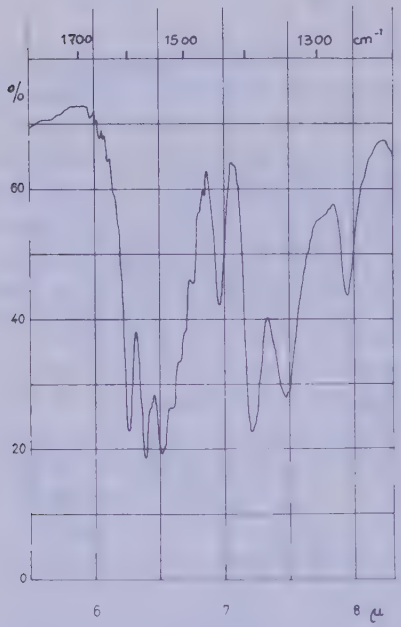


Abb. 23a

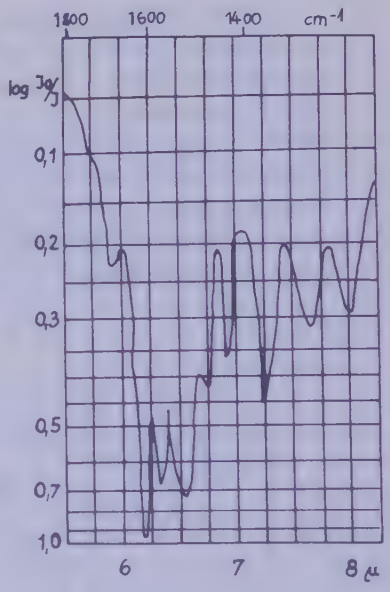


Abb. 23b

Abbildung 23. Ausschnitte der IR-Spektren (in KBr) von
a: Hydroxo-anthranilhydroxamato-kupfer(II) [dimer, dunkelbraun]
b: Kalium-anthranilhydroxamat[75]

Auch im UV-Spektrum des grünen 1:1-Komplexes findet sich ein Hinweis auf die Koordinierung der NH_2-Gruppe zum Kupfer durch das Auftreten der Schulter bei 257 nm, die bei den entsprechenden Komplexen mit m- bzw. p-Amino-benzhydroxamato-Liganden, bei denen die Amino-Gruppe nicht an der Komplex-Bildung teilnehmen kann, fehlt (Tab.14, S.63).

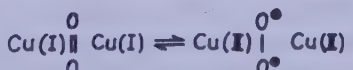
b) Cu(I)- und Fe(II)-Komplexe

Während die Komplexe von zweiwertigem Kupfer mit Hydroxamsäuren in wäßriger Lösung stabil sind, entstehen mit einwertigem Kupfer in diesem Milieu, auch unter Sauerstoff-Ausschluß, über eine instabile, farblose Stufe Kupfer(II)-Komplexe. Sie verdanken ihre Entstehung einer Disproportionierung.

Stabiler sind die Komplexe von Hydroxamsäuren mit zweiwertigem Eisen. Bei Gegenwart von Luftsauerstoff werden sie jedoch, wie BIELIG und DELL[75] gezeigt haben, schnell oxydiert. Es handelt sich um 1:1-Komplexe, die sich aus methanolischer Lösung (unter CO_2 oder in Gegenwart von Dithionit) mit Fe(II)-Ionen im Falle von Glycin-, Leucin- und Nicotinhydroxamsäure abscheiden.

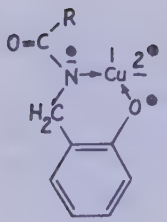
c) Vergleich der Kupferkomplexe von α-Amino-hydroxamsäuren mit Hämocyanin und Coeruloplasmin

Der blauviolette 2:1-Kupferkomplex der Pyrrolidon-(5)-α-carboyl-hydroxamsäure hat ein Absorptionsmaximum von 568 nm, der rotviolette der Glycinhydroxamsäure ein Maximum von 554 nm. Oxyhämocyanin weist ein solches bei 563 (Crustaceen) bzw. 575 bis 580 nm (Mollusken)[13] auf. Geht man von den Vorstellungen WILLIAMS[124] aus, wonach zwischen dem im reduzierten Hämocyanin sicher einwertigen Kupfer und Sauerstoff sich das folgende Gleichgewicht einstellt,



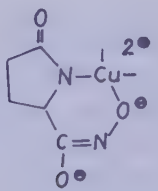
so könnte sehr wohl die Hydroxamato-Gruppierung an der Bindung des Kupfers im Hämocyanin beteiligt sein. Dem steht aber vor allem die gefundene Instabilität der α-Amino-hydroxamato-kupfer(I)-Komplexe entgegen.

Coeruloplasmin, das zweiwertiges Kupfer enthält, zeigt λ_{max} = 605 nm[13]. MORPURGO und WILLIAMS[124] fordern im Bindungszentrum für das Kupfer eine reduzierende, phenolische Gruppe:



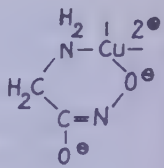
Coeruloplasmin (Modell des Bindungszentrums)

λ_{max} = 605 nm (pH 7)



Pyrrolidon-(5)-α-carboyl-hydroxamsäure/Cu

λ_{max} = 568 nm (pH 11,38)



Glycinhydroxamsäure/Cu

λ_{max} = 554 nm (pH 9,12)

Vergleicht man die danach formulierte Kupfer-Bindung beim Coeruloplasmin mit derjenigen der oben aufgestellten Strukturen für die violetten 2:1-Kupferkomplexe von Pyrrolidon-(5)-α-carboyl- und Glycinhydroxamsäure, so wird erstere am ehesten der angegebenen Struktur vom Bindungszentrum des Coeruloplasmins gerecht. Gegen eine Hydroxamato-Gruppierung im Coeruloplasmin spricht vor allem die Tatsache, daß 1) das Proton am Carbonamid-Stickstoff der Pyrrolidon-(5)-α-carboyl-hydroxamsäure erst bei sehr hohen pH-Werten abgespalten wird und 2) die langwellige Absorption beim Naturkomplex vom formulierten Hydroxamsäure-Modellkomplex nicht erreicht wird.

III. EXPERIMENTELLER TEIL

A. Geräte und allgemeine Meßverfahren

1) Spektrophotometrische Verfahren

Die Elektronenspektren und Extinktionswerte bei definierten Wellenlängen wurden teils mit dem Zeiss-Spektralphotometer M4 QII + Verstärkerteil PMQ II (mit 100-Punkt-Automatik), teils mit dem automatischen Beckman-Spektralphotometer Modell DB bei Schichtdicken von d = 0.5, 1.0, 2.0 und 5.0 cm gegen dest. Wasser gemessen.

Die IR-Spektren sind mit dem Beckman-Gerät IR 4 von KBr-Preßlingen im Bereich von 2 - 15 μ aufgenommen worden*).

2) pH-Messungen

Die pH-Werte wurden mit dem pH-Meter E 300 B der Fa. Metrohm unter Verwendung der kombinierten Glaselektrode X bzw. UX bestimmt.

3) Radiochemische Verfahren

Bei den Eisendonator-Versuchen an Ratten (S. 34) wurde die Radioaktivität des ^{59}Fe mittels eines Szintillationszählers Modell 446 (Armac Liquid Scintillation Detector) der Fa. Packard ermittelt. Serum und Blut wurden in Reagenzgläsern von 10 mm Ø gemessen, Femur und Leber in Kunststoff-Schälchen (Ø 4 cm). Die Ganztiermessung wurde in derselben Apparatur (Tiere in Kunststoff-Kästen) durchgeführt. Als Bezugsstandard diente die Aktivität (Imp./Min.) von 1 ml der jeweils verabreichten Substanz-Lösung ($^{59}FeCl_3$ bzw. Organo-Komplex-[^{59}Fe]), die in ein Reagenzglas (10 mm Ø) pipettiert wurde, für die Ganztiermessungen 250 ml dieser Lösungen nach Verdünnung (1:250) in Kunststoff-Flaschen.

---

*) Für die Aufnahme der Spektren danken wir den Herren Dr.H.G. HAHN und J.MÜLLER vom Institut für Organische Chemie der Universität des Saarlandes, Saarbrücken.

B. Ausgangsverbindungen

1) Hydroxamsäuren

a) Darstellung

Acethydroxamsäure.- Sie wurde analog MIOLATI[103] wie folgt dargestellt: Zu 20 g (0.23 Mol) Essigsäureäthylester gab man 5.3 g (0.23 g-Atome) Na-Metall in absol. Methanol und dann eine methanol. Lösung von 16 g (0.23 Mol) Hydroxylammoniumchlorid + 5.3 g (0.23 g-Atome) Na-Metall in absol.Methanol. Nach 14stdg. Stehenlassen bei +3° wurde das Lösungsmittel i.Vak. abgedampft und der Rückstand in Wasser gelöst. Die Lösung versetzte man mit 46 g Kupfer(II)-acetat-monohydrat, was einem Molverhältnis von Cu:Hydroxamsäure = 1:1 bei vollständigem Umsatz des Esters entspricht. Nun wurde mit 2n Na_2CO_3 alkalische gemacht, wobei die Hydroxamsäure als grüner Kupfer(II)-Komplex ausfiel. Er wurde abfiltriert, gut gewaschen, getrocknet und als Suspension in Äthanol mit H_2S zerlegt. Den Rückstand des eingedampften Filtrats kristallisierte man aus Essigester um. Ausbeute 7.3 g (43%); Schmp. 88°(Zers.).

$C_2H_5NO_2$ (75.07)	Ber.	C 32.0	H 6.66	N 18.7
	Gef.	31.9	6.98	18.1

Glycinhydroxamsäure.- Sie ist nach JONES und SNEED[134] aus Glycinäthylester-hydrochlorid in einer Ausbeute von 46% d.Th. analysenrein erhalten worden; Schmp. 137° (Zers.; aus Wasser/Methanol); Lit.[134] 140° (Zers.).

$C_2H_6N_2O_2$ (90.08)	Ber.	C 26.7	H 6.7	N 31.1
	Gef.	26.6	6.8	30.9

Hippurhydroxamsäure.- Sie wurde aus Hippursäuremethylester analog Acethydroxamsäure als Na-Salz und daraus durch Ansäuern mit Essigsäure als freie Hydroxamsäure analysenrein erhalten. Ausbeute 45% d.Th., Schmp. 149-150° (Zers.; aus Wasser/Äthanol).

$C_9H_{10}N_2O_3$ (194.19)	Ber.	C 55.6	H 5.20	N 14.4
	Gef.	55.5	5.29	14.3

Pyrrolidon-(5)-α-carboyl-hydroxamsäure.- Man erhielt sie nach den Angaben von WIELAND und FRITZ[102] aus L-(+)-Glutaminsäure in einer Ausbeute von 42% d.Th.; Schmp. 165-167°(Zers.), Lit.[102] 166-167°(Zers.).

$C_5H_8N_2O_3$ (144.13)	Ber.	C 41.7	H 5.59	N 19.4
	Gef.	41.9	5.54	19.7

Nicotinhydroxamsäure.- Sie wurde nach den Angaben von HACKLEY, PLAPINGER, STOLBERG und WAGNER-JAUREGG[92] aus Nicotinsäure-

äthylester mit einer Ausbeute von 73.5% d.Th. dargestellt; Schmp. 162° (Zers.; aus Aceton/Petroläther); Lit.[92] 165°(Zers.).

$C_6H_6N_2O_2$ (138.13) Ber. C 52.2 H 4.35 N 20.3
Gef. 52.2 4.29 20.4

Benzhydroxamsäure.- Aus Benzoesäureäthylester wurde sie nach HAUSER und RENFROW[135] in einer Ausbeute von 63.7% d.Th. gewonnen; Schmp. 126°(Zers.; aus Essigester).

$C_7H_7NO_2$ (137.14) Ber. C 61.4 H 5.15 N 10.2
Gef. 61.4 4.94 10.3

o-Amino-benzhydroxamsäure (Anthranilhydroxamsäure).- Sie wurde nach den Angaben von STOLBERG, MOSHER und WAGNER-JAUREGG[136] zu 56.5% d.Th. erhalten; Schmp. 141-142°(Zers.; aus Methanol).

$C_7H_8N_2O_2$ (152.15) Ber. C 55.3 H 5.3 N 18.4
Gef. 55.1 5.4 18.5

m-Amino-benzhydroxamsäure.- Zu 10 g (0.06 Mol) m-Amino-benzoesäuremethylester in 20 ml absol.Methanol gab man bei 0° eine auf -15° gekühlte methanol. Lösung von 6.9 g (0.1 Mol) Hydroxylaminhydrochlorid und 2.3 g (0.1 g-Atom) Na-Metall. Zur Darstellung des Na-Salzes wurde weiteres Natrium (1.5 g, 0.06 g-Atome) in 30 ml absol. Methanol gelöst, bei 0° mit dem Ansatz vereinigt und 14 Stdn. bei derselben Temperatur aufbewahrt. Ein Teil des krist. Na-Salzes der Hydroxamsäure hatte sich abgeschieden, ein weiterer Teil wurde durch Einengen der Lösung erhalten. Zur Befreiung von anhaftendem Ester wurde das Salz mehrmals mit Äther behandelt, dann in Wasser gelöst und die Lösung mit Essigsäure auf pH 4 - 5 gebracht. Hierbei schied sich die freie Hydroxamsäure in Nadeln ab. Sie wurde abgesaugt, über P_4O_{10} getrocknet und aus Äthanol/Petroläther umkristallisiert. Ausbeute 6.2 g (61.5%), Schmp. 146° (Zers.). Gef. C 55.1, H 5.38, N 18.6.

p-Amino-benzhydroxamsäure.- Zu 20 g (0.107 Mol) p-Amino-benzoesäuremethylester-hydrochlorid in absol. Methanol gab man eine methanol.Lösung von 2.45 g (0.107 g-Atome) Na-Metall. Der von abgeschiedenem NaCl befreite Ansatz wurde mit einer gekühlten methanol. Lösung aus 13.9 g (0.2 Mol) Hydroxylamin-hydrochlorid + 4.6g (0.2 g-Atome) Na vereinigt und gemäß den Angaben von CUNNINGHAM, NEWBOLD, SPRING und STARK[137] bei +4° aufbewahrt. Selbst nach 3 Tagen war noch keine merkliche Reaktion eingetreten ($FeCl_3$-Reaktion). Dies war erst nach Zugabe von weiterem Natrium (2.45g, 0.107 g-Atome) der Fall. Man ließ 14 Stdn. bei Raumtemperatur stehen, zog das Lösungsmittel i.Vak. ab, befreite das ausgeschiedene Na-Salz vom anhaftenden Ester mit Äther, löste es in Wasser und brachte die Lösung mit Essigsäure auf pH 4 - 5. Die ausgeschiedene Hydroxamsäure wurde getrocknet und aus Äthanol umkristallisiert. Ausbeute 6.8 g (38%); prismatische Nadeln vom Schmp. 170 bis 171° (Zers.); Lit.[137] 185° (Zers.). Gef. C 55.4, H 5.35, N 18.2.- Die Hydroxamsäure färbt sich beim Stehenlassen an Luft oberflächlich rotbraun.

Histidinhydroxamsäure.- 5 g (27 mMol) Histidinmethylester-dihydrochlorid in 60 ml absol.Methanol wurden mit der Lösung von 1.9 g (82 mg.-At.) Natrium in 30 ml absol.Methanol versetzt. Nach raschem Abkühlen wurde das Gemisch 2 Stdn. bei -15° stehengelassen und dann vom ausgeschiedenen NaCl abfiltriert. Zum Filtrat wurde eine Lösung von 2.2 g (31 mMol) Hydroxylamin-hydrochlorid + 0.7 g (31 mg-At.) Natrium in absol.Methanol gegeben. Nach mehrtägigem Stehenlassen bei +3° wurde das Methanol abgedampft, der Rückstand in Wasser gelöst und der nicht-umgesetzte Ester durch Ausäthern entfernt. Zur Gewinnung der freien Säure leitete man in die wäßrige Lösung CO_2 ein, bis sich ein farbloser Niederschlag gebildet hatte. Nach Filtration wurde mit Wasser gewaschen und über P_4O_{10} getrocknet; Umkristallisation aus Wasser erbrachte 1 g (29%) eisblumenähnliche Kristalle der reinen Säure vom Schmp.158° (Zers.).

$C_6H_{10}N_4O_2$ (170.17) Ber. C 42.35 H 5.92 N 32.9
Gef. 42.55 6.05 32.6[a)]

b) Dünnschichtchromatographie

Als Trägermaterial diente Kieselgel G (Merck, nach STAHL). Die Schichtdicke betrug 0.25 mm, die Aktivierungszeit 1 Stde. bei 110°.- Als saures Fließmittel diente (a) n-Butanol/Eisessig/Wasser (75:15:10), als neutrales (b) Äthanol/Wasser(70:30) und als basisches (c) Äthanol/25proz. NH_3(70:30) [vgl.Tab.15].- Die Laufstrecke betrug 10 cm (Kammersättigung).- Durch vorhandene Fe^{3+}-Ionen in Kieselgel ließen sich die Hydroxamsäuren an der Bildung ihrer farbigen Fe(III)-Komplexe erkennen. Die Farbe wurde durch Besprühen mit wäßr. 0.1proz. $FeCl_3$-Lösung verstärkt.- Die R_F-Werte enthält Tab.15.

Tabelle 15. R_F-Werte von Hydroxamsäuren bei DC auf Kieselgel G

Hydroxamsäure	(a)**)	(b)**)	(c)**)
Acet-	0.46*)	0.72*)	0.34
Glycin-	0.13	0.23*)	0.10
Hippur-	0.59	0.78	0.51
Pyrrolidon-(5)-α-carboyl-	0.20*)	0.59	0.40
Benz-	0.77	0.79	0.71*)
Anthranil-	0.62	0.74*)	0.54
m-Amino-benz-	0.42	0.63*)	0.46
p-Amino-benz-	0.49	0.76*)	0.47
Nicotin-	0.50*)	0.65*)	-*)
Histidin-	0.04	0.24*)	0.21

*) Schwanzbildung (R_F hierbei auf den Schwerpunkt bezogen).
**) Fließmittel: (a)= n-Butanol/Eisessig/Wasser(75:15:10), (b) = Äthanol/Wasser(70:30), (c) = Äthanol/25proz.NH_3(70:30).

a) Die Elementaranalysen wurden im Mikroanalytischen Labor (Leitung: Dr.W.Otting) des Max-Planck-Institutes für Medizinische Forschung, Heidelberg, Institut für Chemie, von Frl.E.Crummenerl und Herrn H.Riethmüller ausgeführt.

c) UV-Spektren

Im UV-Bereich von 320 - 200 nm wurden die Hydroxamsäuren ohne und mit zusätzlichem Stickstoff in neutraler, wäßr. Lösung (freie Säure), 0.1n HCl (Ammonium-Form) sowie $4 \cdot 10^{-3}$n NaOH (Hydroxamat-Anion) gemessen ($c = 10^{-5}$ bis 10^{-6}m). Die bei aromatischen und heteroaromatischen Verbindungen erhaltenen λ_{max}-Werte sind zusammen mit den molaren Extinktionen (ε_{max}) in Tabelle 16 zusammengestellt. Bei Acet-, Glycin-, Pyrrolidon-(5)-α-carboyl- und Histidinhydroxamsäure liegen die UV-Maxima für die wäßrigen Systeme unterhalb der kurzwelligen Begrenzung des Meßbereiches (200 nm).

Tabelle 16. λ_{max}- und ε_{max}-Werte aus den UV-Spektren von Hydroxamsäuren

Hydroxamsäure	λ_{max}[nm],(ε_{max}) in 0.1n HCl	λ_{max}[nm],(ε_{max}) in Wasser	λ_{max}[nm],(ε_{max}) in 0.004n NaOH
Hippur-	nicht gemessen	267[S],(800) 229,(11600)	228,(12000)
o-Amino-benz(Anthranil)-	222,(8310)	309,(2770) 239[S],(7710) 208,(25030)	296,(3580) 233[S],(9950)
m-Amino-benz-	222,(8190)	301,(1830) 210,(21750)	276,(5020) 232[S],(11720) 203,(21950)
p-Amino-benz-	220*),(8260)*)	272,(14490)	273,(12850) 272*),(12350)*)
Benz-*)	227,(8750)	nicht gemessen	268,(5350) 215,(9510)
Nicotin-	261,(5550)	261,(3800) 210,(7950)	272,(4860) 236,(4440)

*) Werte aus der Lit.[138].

d) Ermittlung der pK_a-Werte

pH-Titration: Zur Bestimmung der Dissoziationskonstante der Hydroxamato-Gruppe wurden die wäßrigen, 0.01m Hydroxamsäure-Lösungen (Ionenstärke I mit 0.1m $NaClO_4$ eingestellt) potentiometrisch mit 0.1n NaOH titriert. Um die Dissoziationskonstanten vorhandener basischer N-Atome zu erfassen, titrierte man entsprechend mit 0.1n $HClO_4$. Nach Zugabe von jeweils 0.1 ml Lauge bzw. Säure wurde der zugehörige pH-Wert abgelesen.- Die Ausgangsvolumina betrugen bei Titrationen mit 0.1n NaOH für Glycin-, Pyrrolidon-(5)-α-carboyl- und m-Amino-benzhydroxamsäure jeweils 50 ml, bei Hippur-, o-Amino-benz(Anthranil)-, p-Amino-benz- und Histidinhydroxamsäure je 60 ml. Bei Titrationen mit 0.1n $HClO_4$ wurden im Falle von o-, m- und p-Amino-benz- sowie bei Nicotin- und Histidinhydroxamsäure je 60 ml, bei Glycinhydroxamsäure 45 ml der 0.01m Lösungen vorgelegt.

Meß- und Rechendaten: Aus der Bruttokonzentration des Liganden [L] in Mol/l und der zugegebenen Menge 0.1n NaOH bzw. $HClO_4$ unter Berücksichtigung der dadurch entstehenden Verdünnung erhält man die Konzentrationen an a) Hydroxamsäure-Anion [B] bzw. b) Ammonium-Kation [BH] und freier, am basischen Stickstoff nicht protonierter Säure: bei a) = [BH], bei b) = [B]. Unter Berücksichtigung der zugehörigen pH-Werte berechnen sich nach Gleichung [(2), S.27] die in Tab. 17 ebenfalls aufgeführten pK_a-Werte für Hydroxamato-Gruppe (Tab. 17, unter a) und für den basischen Stickstoff (Tab. 17, unter b). Im Falle der Histidinhydroxamsäure errechnen sich aus [L] und dem Verhältnis c_{HClO_4}: [L] (Titrationsgrad a) nach Gleichung [(3), S.27] die pK_a-Werte für Amino- und Imidazol-N (Tab. 17, unter c).

Tabelle 17. Meß- und Rechenwerte zur Ermittlung der angegebenen pK_a-Werte

Es bedeuten: $[L]\cdot10^3$ = Bruttokonzentration an Ligand, $[B]\cdot10^3$ = Basenkonzentration, $[BH]\cdot10^3$ = Säurekonzentration in Mol/l; a = Titrationsgrad c_{HClO_4}:[L]

a) Titration mit 0.1n NaOH

Hydroxamsäure	NaOH [ml]	$[L]\cdot10^3$	pH	$[B]\cdot10^3$	$[BH]\cdot10^3$	pK_a	Mittelwert
Glycin-	1.5	9.71	8.89	2.91	6.80	9.16	
	1.7	9.67	8.96	3.30	6.37	9.25	
	2.0	9.62	9.05	3.86	5.76	9.22	pK_a
	2.5	9.52	9.19	4.78	4.74	9.19	(CO-NHOH)
	2.7	9.49	9.25	5.14	4.35	9.18	9.17
	3.0	9.43	9.35	5.68	3.75	9.17	
	3.3	9.38	9.43	6.21	3.17	9.14	
Hippur-	2.0	9.68	8.40	3.32	6.36	8.68	
	2.5	9.60	8.59	4.11	5.49	8.72	
	2.7	9.57	8.65	4.43	5.14	8.71	pK_a
	3.0	9.52	8.74	4.89	4.63	8.72	(CO-NHOH)
	3.3	9.48	8.83	5.36	4.12	8.72	8.72
	3.5	9.45	8.90	5.67	3.78	8.72	
	4.0	9.38	9.05	6.42	2.96	8.71	
Pyrrolidon-(5)-	1.5	9.71	8.04	2.93	6.78	8.40	
	2.4	9.54	8.38	4.62	4.92	8.41	
α-carboyl-	2.6	9.51	8.44	4.98	4.53	8.40	pK_a
	2.8	9.47	8.50	5.34	4.13	8.39	(CO-NHOH)
	3.0	9.43	8.58	5.72	3.71	8.40	8.40
	3.4	9.36	8.71	6.42	2.94	8.37	
	3.6	9.33	8.78	6.77	2.56	8.36	
o-Amino-	2.0	9.68	8.58	3.31	6.37	8.86	
benz(An-	2.5	9.60	8.73	4.10	5.50	8.86	
thranil)-	2.7	9.57	8.79	4.42	5.15	8.86	pK_a
	3.0	9.52	8.88	4.89	4.63	8.86	(CO-NHOH)
	3.3	9.48	8.95	5.35	4.13	8.84	8.86
	3.5	9.45	9.02	5.66	3.97	8.85	
	4.0	9.38	9.18	6.41	2.97	8.85	

Forts.S.81

Tab.17, Fortsetzung

Hydroxamsäure	NaOH [ml]	$[L]\cdot10^3$	pH	$[B]\cdot10^3$	$[BH]\cdot10^3$	pK_a	Mittelwert
m-Amino-benz-	1.38	9.73	8.26	2.72	7.01	8.67	
	1.76	9.66	8.40	3.44	6.22	8.66	
	2.39	9.54	8.61	4.52	4.92	8.64	pK_a
	2.50	9.52	8.66	4.82	4.70	8.65	(CO-NHOH)
	2.90	9.45	8.80	5.53	3.92	8.65	8.65
	3.29	9.38	8.94	6.25	3.13	8.64	
	3.60	9.33	9.06	6.79	2.54	8.63	
p-Amino-benz-	2.0	9.68	8.73	3.32	6.36	9.01	
	2.5	9.60	8.90	4.11	5.49	9.03	
	2.7	9.57	8.97	4.43	5.14	9.03	pK_a
	3.0	9.52	9.07	4.89	4.63	9.05	(CO-NHOH)
	3.3	9.48	9.16	5.36	4.12	9.05	9.03
	3.5	9.45	9.21	5.67	3.78	9.03	
	4.0	9.38	9.38	6.42	2.96	9.04	
Nicotin-	2.05	9.67	7.86	3.38	6.29	8.13	
	2.50	9.60	8.02	4.10	5.50	8.15	
	2.70	9.57	8.08	4.40	5.17	8.15	pK_a
	3.00	9.52	8.16	4.87	4.65	8.14	(CO-NHOH)
	3.30	9.48	8.25	5.34	4.14	8.14	8.14
	3.50	9.45	8.31	5.64	3.81	8.14	
	4.00	9.38	8.47	6.39	2.99	8.14	
Histidin-	2.0	9.68	8.75	3.31	6.37	9.03	
	2.5	9.60	8.89	4.11	5.49	9.02	
	2.7	9.57	8.95	4.42	5.15	9.02	pK_a
	3.0	9.52	9.04	4.89	4.63	9.02	(CO-NHOH)
	3.3	9.48	9.13	5.35	4.13	9.02	9.02
	3.5	9.45	9.18	5.66	3.79	9.01	
	4.0	9.38	9.32	6.42	2.96	8.99	

b) Titration mit 0.1n $HClO_4$

Hydroxamsäure	$HClO_4$ [ml]	$[L]\cdot10^3$	pH	$[BH]\cdot10^3$	$[B]\cdot10^3$	pK_a	Mittelwert
Glycin-	1.5	9.68	7.70	3.24	6.44	7.40	
	1.8	9.62	7.60	3.87	5.75	7.43	
	2.0	9.57	7.52	4.28	5.29	7.43	pK_a
	2.2	9.53	7.44	4.69	4.84	7.43	(NH_2)
	2.4	9.49	7.36	5.09	4.40	7.42	7.42
	2.7	9.43	7.22	5.69	3.74	7.40	
	2.9	9.39	7.12	6.09	3.30	7.39	
o-Amino-benz(Anthranil)-	2.2	9.65	3.13	3.54	6.11	2.74	
	2.5	9.60	3.07	4.01	5.59	2.76	
	2.8	9.55	3.00	4.47	5.08	2.79	pK_a
	3.0	9.52	2.96	4.77	4.75	2.76	(NH_2)
	3.2	9.49	2.91	5.07	4.42	2.74	2.75
	3.5	9.45	2.86	5.52	3.93	2.75	
	3.8	9.40	2.80	5.97	3.43	2.74	
m-Amino-benz-	2.2	9.65	3.86	3.54	6.11	3.60	
	2.5	9.60	3.78	4.01	5.59	3.60	
	2.8	9.55	3.70	4.47	5.08	3.61	pK_a
	3.0	9.52	3.64	4.77	4.75	3.60	(NH_2)
	3.2	9.49	3.59	5.07	4.42	3.60	3.60
	3.5	9.45	3.51	5.52	3.93	3.60	
	3.8	9.40	3.44	5.97	3.43	3.61	

Forts.S.82

Forts. von Tab.17

Hydroxamsäure	$HClO_4$ [ml]	$[L]\cdot10^3$	pH	$[BH]\cdot10^3$	$[B]\cdot10^3$	pK_a	Mittelwert
p-Aminobenz-	2.2	9.65	3.22	3.54	6.11	2.85	
	2.5	9.60	3.13	4.01	5.59	2.84	
	2.8	9.55	3.05	4.47	5.08	2.83	pK_a
	3.0	9.52	3.01	4.77	4.75	2.83	(NH_2)
	3.2	9.49	2.97	5.07	4.42	2.83	2.84
	3.5	9.45	2.91	5.52	3.93	2.83	
	3.8	9.40	2.86	5.97	3.43	2.84	
Nicotin-	2.2	9.65	3.40	3.54	6.11	3.08	
	2.5	9.60	3.32	4.01	5.59	3.08	
	2.8	9.55	3.25	4.47	5.08	3.09	pK_a
	3.0	9.52	3.20	4.77	4.75	3.09	(=N-)
	3.2	9.49	3.16	5.07	4.42	3.10	3.09
	3.5	9.45	3.09	5.52	3.93	3.09	
	3.8	9.40	3.03	5.97	3.43	3.09	

c) Titration von Histidinhydroxamsäure mit 0.1n $HClO_4$

Nr.	$HClO_4$ [ml]	pH	a	$[L]\cdot10^3$	$a\cdot[L]\cdot10^3$	$pK_{Imidazol-N}$	$pK_{Amino-N}$
1)	1.5	7.40	0.2505	9.76	2.44		
2)	3.0	6.96	0.5010	9.52	4.77		
3)	4.5	6.52	0.7515	9.30	6.99	5.15 (aus Nr.3 u.Nr.5)	6.91
4)	6.1	5.99	1.0187	9.08	9.25	5.08 (aus Nr.2 u.Nr.7)	6.90
5)	7.5	5.54	1.2525	8.89	11.13	5.12 (aus Nr.1 u.Nr.6)	6.96
6)	9.0	5.12	1.5030	8.70	13.08	5.14 (aus Nr.1 u.Nr.5)	6.94
7)	10.5	4.60	1.7535	8.51	14.92		
					Mittelwert:	5.12	6.93

2) Bereitung der Metallsalz-Lösungen

a) Als Eisen-Komponente diente für alle Untersuchungen 0.01m Eisen(III)-perchlorat-Lösung, hergestellt aus Carbonyleisen, das in 70proz. Perchlorsäure gelöst und mit H_2O_2 oxydiert wurde.

b) Zur Bereitung der Cu(II)-Komplexe wurde eine 0.01m Kupfer(II)-sulfat(bzw. -acetat)-Lösung verwendet, bereitet aus $CuSO_4\cdot5\ H_2O$ (p.a.) bzw. $Cu(CH_3CO_2)_2\cdot H_2O$ (p.a.). Die Lösungen der angegebenen Molarität wurden jeweils durch Auffüllen mit Wasser erhalten.

C. Untersuchung der Eisen(III)-Komplexe

1) Bestimmung der λ_{max}-Werte verschiedener Komplextypen

1:1-Komplexe: 2 ml 0.01m Fe(III)-perchlorat-Lösung (s.obe wurden mit jeweils 2 ml 0.01m wäßr. Hydroxamsäure-Lösung vermisch und mit 0.1m HCl/$NaClO_4$-Puffer (I = 0.1) des jeweiligen pH-Wertes

(vgl.Tab.3, S.22) auf 25 ml aufgefüllt. Das Elektronenspektrum wurde bei d = 1 cm (Glycinhydroxamsäure: d = 5 cm) aufgenommen und λ_{max} abgelesen.

3:1-Komplexe: Die λ_{max}-Werte (Tab.3,S.22) wurden aus den zur Ermittlung der Stabilitätskonstanten aufgenommenen Absorptionskurven (Beispiele in Abb.1, S.19,20) abgelesen.

2) Ermittlung der Zusammensetzung eines Histidinhydroxamato-eisen(III)-Komplexes nach der Geraden-Methode

Die in Tabelle 18 angegebenen Volumina an 0.01m Histidinhydroxamsäure wurden mit jeweils 1 ml äquimolarer Eisen(III)-perchlorat-Lösung versetzt und mit 0.1m Glycin/$HClO_4$-Puffer vom pH 2.95 auf 50 ml aufgefüllt. Die Extinktionswerte wurden bei 480 nm und d = 1 cm bestimmt. Die graphische Auswertung (Abb.4, S.24) zeigt eine Gerade für n = 1, gekrümmte Kurven für n = 2 und n = 3.

Tabelle 18. Meß- und Rechendaten zur Ermittlung der Zusammensetzung des Histidinhydroxamato-eisen(III)-Komplexes bei pH = 2.95 und λ = 480 nm in 0.1m Glycin/$HClO_4$-Puffer

Es bedeuten: HsH = Histidinhydroxamsäure; v = zugegebenes Volumen an HsH in l; E = log I_o/I.

ml(HsH) (0.01m)	E_{480}	1/E	$1/v \cdot 10^{-3}[l^{-1}]$	$1/v^2 \cdot 10^{-6}[l^{-2}]$	$1/v^3 \cdot 10^{-9}[l^{-3}]$
1.0	0.048	20.83	1.000	1.000	1.000
1.2	0.056	17.86	0.833	0.694	0.579
1.4	0.064	15.63	0.714	0.510	0.364
1.6	0.072	13.89	0.625	0.391	0.244
1.8	0.082	12.20	0.555	0.309	0.171
2.0	0.090	11.11	0.500	0.250	0.125
2.3	0.102	9.80	0.435	0.189	0.082
2.5	0.111	9.01	0.400	0.160	0.064
2.7	0.120	8.33	0.370	0.137	0.051
3.0	0.131	7.63	0.333	0.111	0.037
3.5	0.150	6.67	0.286	0.082	0.023
4.0	0.169	5.92	0.250	0.062	0.016
5.0	0.205	4.88	0.200	0.040	0.008
6.0	0.240	4.17	0.167	0.028	0.005
8.0	0.313	3.19	0.125	0.016	0.002
10.0	0.379	2.64	0.100	0.010	0.001

3) Prüfung der Gültigkeit des Lambert-Beerschen Gesetzes bei schwerlöslichen 3:1-Komplexen

Von den an sich schwerlöslichen 3:1-Eisenkomplexen der Anthranilsäure[75] und der Benzhydroxamsäure[77] hat man wäßrige Stammlösungen wie folgt bereitet: 2 ml $Fe(ClO_4)_3$-Lösung ($2 \cdot 10^{-4}$m) + 60 ml Liganden-Lösung ($6 \cdot 10^{-3}$m) wurden mit 1m Piperazin/HCl-Puffer vom pH 5.50 auf 100 ml aufgefüllt (Komplexkonzentration $2 \cdot 10^{-4}$m). Aus diesen Stammlösungen erhielt man durch Verdünnung mit dem angegebenen Puffer den Komplex in den angeführten Konzentrationen (Abb. 24, S. 84), für die log I_o/I bei 450 nm (Anthranilhydroxamato-Komplex) bzw. 440 nm (Benzhydroxamato-Komplex) bestimmt wurde.

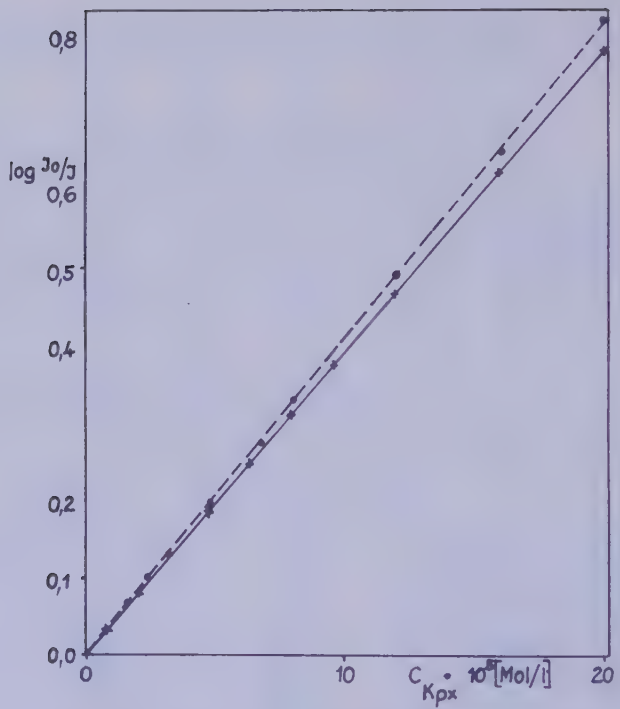


Abbildung 24. Gültigkeit des Lambert-Beerschen Gesetzes beim System Eisen(III) und Anthranil- (—— bei 450 nm) bzw. Benzhydroxamsäure (--- bei 440 nm)

Stammlösung: $c_{HsH} = 6 \cdot 10^{-3}$m und $c_{Fe} = 2 \cdot 10^{-4}$m; pH = 5.5 (eingestellt mit 1m Piperazin/HCl-Puffer); d = 1 cm.

4) Bestimmung der Stabilitätskonstanten

a) Ermittlung der pH-abhängigen Extinktionen

Je 1 ml 0.01m Eisen(III)-perchlorat-Lösung (vgl.S.82) wurde mit den folgenden Volumina an 0.01m Hydroxamsäure-Lösung in 0.1m $NaClO_4$ versetzt: Bei o-, m- und p-Amino-benzhydroxamsäure jeweils 20 ml und bei Glycin-, Hippur-, Pyrrolidon-(5)-α-carboyl-Nicotin-, Acet- und Benzhydroxamsäure jeweils 30 ml. Nach Einstellen der in Tab.19 (S.85) angegebenen pH-Werte mit 0.1n $HClO_4$ bzw. 0.1n NaOH wurde stets mit 0.1m $NaClO_4$-Lösung auf 50 ml aufgefüllt. Die Ionenstärke betrug dann 0.1. Danach wurden das Elektronenspektrum jeder einzelnen Lösung verschiedener pH-Werte bei d = 1 cm im Bereich von 800 - 380 nm aufgenommen und die Extinktion E_λ ($\log I_o/I$) bei einer konstanten Wellenlänge (Angabe in Tab.19) abgelesen.

b) Meß- und Rechendaten

Aus der Bruttokonzentration C_A des jeweiligen Liganden, seiner Dissoziationskonstanten K_a (Bestimmung der pK_a-Werte auf S.80 f.), der gemessenen Extinktion E_λ nach Zugabe von Fe^{3+}-Ionen und dem zugehörigen pH-Wert (nach Umrechnung auf die Protonenaktivität a) erhält man den dissoziierten Anteil des Liganden R sowie den Wert $\alpha = a/R$. Die Lösung der Gleichung [(1),S.26] mit sechs Unbekannten, welche mittels des Elektronenrechners Electrologica X 1 ausgeführt wurde, ergibt die Werte $x_1(\beta_I)$, $x_2(\beta_{II})$ und $x_3(\beta_{III})$. Die Meß- und Rechendaten für jeweils 2 Meßreihen enthält Tabelle 19. Durch Addition von pK = 2,63 (für den Zerfall von $[Fe(OH)]^{2+}$ in Gegenwart von Protonen)[96] zu den Werten log K_I bis log K_{III} gewinnt man die korrigierten Werte log β_1 bis log β_3 der thermodynamischen Stabilitätskonstanten verschiedener Hydroxamato-eisen(III)-Komplexe (Tab.6, S.31).

Tabelle 19. Meß- und Rechendaten zur Ermittlung der thermodynamischen Stabilitätskonstanten von Hydroxamato-eisen-(III)-Komplexen

Erklärung der angegebenen Größen im voranstehenden Text.

Glycinhydroxamsäure: $K_a = 6.76 \cdot 10^{10}$, $C_A = 6 \cdot 10^{-3}$m, Extinktion bei 460 bzw. 440 nm.

pH	E	R	α	α^2	α^3
1.60	0.066	$1.6159 \cdot 10^{-10}$	$1.5533 \cdot 10^{8}$	$2.4127 \cdot 10^{16}$	$3.7476 \cdot 10^{24}$
2.32	0.145	$8.4676 \cdot 10^{-10}$	$5.6568 \cdot 10^{6}$	$3.2000 \cdot 10^{13}$	$1.8102 \cdot 10^{20}$
2.70	0.186	$2.0382 \cdot 10^{-9}$	$9.7636 \cdot 10^{5}$	$9.5327 \cdot 10^{11}$	$9.3073 \cdot 10^{17}$
3.38	0.263	$9.7266 \cdot 10^{-9}$	$4.2872 \cdot 10^{4}$	$1.8380 \cdot 10^{9}$	$7.8800 \cdot 10^{13}$
4.44	0.355	$1.1173 \cdot 10^{-7}$	$3.2488 \cdot 10^{2}$	$1.0555 \cdot 10^{5}$	$3.4290 \cdot 10^{7}$
5.48	0.395	$1.2252 \cdot 10^{-6}$	$2.7018 \cdot 10^{0}$	$7.2995 \cdot 10^{0}$	$1.9721 \cdot 10^{1}$
log β_I = 8.15; log β_{II} = 13.90; log β_{III} = 16.73					
1.71	0.066	$2.0800 \cdot 10^{-10}$	$9.3750 \cdot 10^{7}$	$8.7891 \cdot 10^{15}$	$8.2398 \cdot 10^{23}$
2.50	0.146	$1.2835 \cdot 10^{-9}$	$2.4619 \cdot 10^{6}$	$6.0612 \cdot 10^{12}$	$1.4922 \cdot 10^{19}$
2.80	0.182	$2.5671 \cdot 10^{-9}$	$6.1548 \cdot 10^{5}$	$3.7882 \cdot 10^{11}$	$2.3316 \cdot 10^{17}$
3.45	0.269	$1.1425 \cdot 10^{-8}$	$3.1071 \cdot 10^{4}$	$9.6543 \cdot 10^{8}$	$2.9997 \cdot 10^{13}$
4.44	0.359	$1.1173 \cdot 10^{-7}$	$3.2488 \cdot 10^{2}$	$1.0555 \cdot 10^{5}$	$3.4290 \cdot 10^{7}$
5.00	0.394	$4.0557 \cdot 10^{-7}$	$2.4657 \cdot 10^{1}$	$6.0794 \cdot 10^{2}$	$1.4990 \cdot 10^{4}$
log β_I = 7.96; log β_{II} = 13.47; log β_{III} = 16.29					

Fortsetzung auf S.86

Tab. 19, Fortsetzung

Hippurhydroxamsäure: $K_a = 1.90 \cdot 10^{-9}$, $C_A = 6 \cdot 10^{-3}$m, Extinktion bei 440 bzw. 420 nm.

pH	E	R	α	α^2	α^3
1.78	0.204	$6.8675 \cdot 10^{-10}$	$2.4172 \cdot 10^{7}$	$5.8428 \cdot 10^{14}$	$1.4123 \cdot 10^{22}$
2.20	0.269	$1.8067 \cdot 10^{-9}$	$3.4926 \cdot 10^{6}$	$1.2199 \cdot 10^{13}$	$4.2605 \cdot 10^{19}$
2.82	0.370	$7.5497 \cdot 10^{-9}$	$2.0001 \cdot 10^{5}$	$4.0004 \cdot 10^{10}$	$8.0011 \cdot 10^{15}$
3.52	0.441	$3.7748 \cdot 10^{-8}$	$8.0004 \cdot 10^{3}$	$6.4006 \cdot 10^{7}$	$5.1207 \cdot 10^{11}$
4.75	0.542	$6.4038 \cdot 10^{-7}$	$2.7796 \cdot 10^{1}$	$7.7269 \cdot 10^{2}$	$2.1476 \cdot 10^{4}$
5.62	0.576	$4.7462 \cdot 10^{-6}$	$5.0566 \cdot 10^{-1}$	$2.5567 \cdot 10^{-1}$	$1.2930 \cdot 10^{-1}$

$\log \beta_I = 7.87$; $\log \beta_{II} = 13.31$; $\log \beta_{III} = 15.20$

1.98	0.188	$1.0857 \cdot 10^{-9}$	$9.6711 \cdot 10^{6}$	$9.3530 \cdot 10^{13}$	$9.0454 \cdot 10^{20}$
2.32	0.231	$2.3800 \cdot 10^{-9}$	$2.0126 \cdot 10^{6}$	$4.0507 \cdot 10^{12}$	$8.1526 \cdot 10^{18}$
2.64	0.280	$4.9782 \cdot 10^{-9}$	$4.6001 \cdot 10^{5}$	$2.1161 \cdot 10^{11}$	$9.7340 \cdot 10^{16}$
3.20	0.350	$1.8067 \cdot 10^{-8}$	$3.4927 \cdot 10^{4}$	$1.2199 \cdot 10^{9}$	$4.2606 \cdot 10^{13}$
4.20	0.457	$1.8066 \cdot 10^{-7}$	$3.4928 \cdot 10^{2}$	$1.2199 \cdot 10^{5}$	$4.2609 \cdot 10^{7}$
4.85	0.550	$8.0840 \cdot 10^{-7}$	$1.7442 \cdot 10^{1}$	$3.0422 \cdot 10^{1}$	$3.0422 \cdot 10^{1}$

$\log \beta_I = 7.73$; $\log \beta_{II} = 13.32$; $\log \beta_{III} = 15.84$

Pyrrolidon-(5)-α-carboyl-hydroxamsäure: $K_a = 3.98 \cdot 10^{-9}$, $C_A = 6 \cdot 10^{-3}$m, Extinktion bei 450 bzw. 420 nm.

pH	E	R	α	α^2	α^3
1.52	0.191	$7.9073 \cdot 10^{-10}$	$3.8193 \cdot 10^{7}$	$1.4587 \cdot 10^{15}$	$5.5711 \cdot 10^{22}$
2.20	0.300	$3.7845 \cdot 10^{-9}$	$1.6673 \cdot 10^{6}$	$2.7800 \cdot 10^{12}$	$4.6353 \cdot 10^{18}$
2.65	0.369	$1.0661 \cdot 10^{-8}$	$2.1012 \cdot 10^{5}$	$4.4149 \cdot 10^{10}$	$9.2766 \cdot 10^{15}$
3.52	0.462	$7.9072 \cdot 10^{-8}$	$3.8193 \cdot 10^{3}$	$1.4587 \cdot 10^{7}$	$5.5713 \cdot 10^{10}$
4.15	0.503	$3.3727 \cdot 10^{-7}$	$2.0992 \cdot 10^{2}$	$4.4067 \cdot 10^{4}$	$9.2506 \cdot 10^{6}$
5.36	0.550	$5.4596 \cdot 10^{-6}$	$8.0043 \cdot 10^{-1}$	$6.4069 \cdot 10^{-1}$	$5.1283 \cdot 10^{-1}$

$\log \beta_I = 7.87$; $\log \beta_{II} = 13.13$; $\log \beta_{III} = 15.40$

1.52	0.136	$7.9073 \cdot 10^{-10}$	$3.8193 \cdot 10^{7}$	$1.4587 \cdot 10^{15}$	$5.5711 \cdot 10^{22}$
2.02	0.203	$2.5005 \cdot 10^{-9}$	$3.8192 \cdot 10^{6}$	$1.4586 \cdot 10^{13}$	$5.5708 \cdot 10^{19}$
2.51	0.280	$7.7282 \cdot 10^{-9}$	$3.9984 \cdot 10^{5}$	$1.5987 \cdot 10^{11}$	$6.3922 \cdot 10^{16}$
3.12	0.361	$3.1462 \cdot 10^{-8}$	$2.4124 \cdot 10^{4}$	$5.8197 \cdot 10^{8}$	$1.4040 \cdot 10^{13}$
4.15	0.480	$3.3727 \cdot 10^{-7}$	$2.0992 \cdot 10^{2}$	$4.4067 \cdot 10^{4}$	$9.2506 \cdot 10^{6}$
4.76	0.550	$1.3721 \cdot 10^{-6}$	$1.2681 \cdot 10^{1}$	$1.6082 \cdot 10^{2}$	$2.0393 \cdot 10^{3}$

$\log \beta_I = 7.92$; $\log \beta_{II} = 13.51$; $\log \beta_{III} = 15.99$

Fortsetzung auf S.87

Tab.19, Fortsetzung

o-Amino-benz(Anthranil)-hydroxamsäure: $K_a = 1.38 \cdot 10^{-9}$, $C_A = 4 \cdot 10^{-3}$m, Extinktion bei 460 bzw. 440 nm.

pH	E	R	α	α^2	α^3
1.49	0.155	$1.7037 \cdot 10^{-10}$	$1.9017 \cdot 10^{8}$	$3.6166 \cdot 10^{16}$	$6.8779 \cdot 10^{24}$
2.26	0.313	$1.0036 \cdot 10^{-9}$	$5.4801 \cdot 10^{6}$	$3.0031 \cdot 10^{13}$	$1.6457 \cdot 10^{20}$
2.99	0.508	$5.4118 \cdot 10^{-9}$	$1.8848 \cdot 10^{5}$	$3.5524 \cdot 10^{10}$	$6.6955 \cdot 10^{15}$
3.58	0.596	$2.0989 \cdot 10^{-8}$	$1.2531 \cdot 10^{4}$	$1.5702 \cdot 10^{8}$	$1.9676 \cdot 10^{12}$
4.08	0.676	$6.6345 \cdot 10^{-8}$	$1.2541 \cdot 10^{3}$	$1.5726 \cdot 10^{6}$	$1.9722 \cdot 10^{9}$
4.98	0.773	$5.2565 \cdot 10^{-7}$	$1.9976 \cdot 10^{1}$	$3.9902 \cdot 10^{2}$	$7.9706 \cdot 10^{3}$

$\log \beta_I = 8.31$; $\log \beta_{II} = 14.01$; $\log \beta_{III} = 17.06$

1.74	0.172	$3.0330 \cdot 10^{-10}$	$6.0007 \cdot 10^{7}$	$3.6009 \cdot 10^{15}$	$2.1608 \cdot 10^{23}$
2.49	0.329	$1.0737 \cdot 10^{-9}$	$1.9017 \cdot 10^{6}$	$3.6166 \cdot 10^{12}$	$6.8779 \cdot 10^{18}$
2.86	0.423	$4.0000 \cdot 10^{-9}$	$3.4500 \cdot 10^{5}$	$1.1903 \cdot 10^{11}$	$4.1064 \cdot 10^{16}$
3.40	0.518	$1.3869 \cdot 10^{-8}$	$2.8697 \cdot 10^{4}$	$8.2349 \cdot 10^{8}$	$2.3631 \cdot 10^{13}$
3.94	0.622	$4.7999 \cdot 10^{-8}$	$2.3959 \cdot 10^{3}$	$5.7402 \cdot 10^{6}$	$1.3753 \cdot 10^{10}$
4.37	0.702	$1.2927 \cdot 10^{-7}$	$3.3032 \cdot 10^{2}$	$1.0911 \cdot 10^{5}$	$3.6040 \cdot 10^{7}$

$\log \beta_I = 7.95$; $\log \beta_{II} = 13.67$; $\log \beta_{III} = 17.08$

m-Amino-benzhydroxamsäure: $K_a = 2.24 \cdot 10^{-9}$, $C_A = 4 \cdot 10^{-3}$m, Extinktion bei 460 bzw. 440 nm.

pH	E	R	α	α^2	α^3
1.44	0.236	$2.4683 \cdot 10^{-10}$	$1.4706 \cdot 10^{8}$	$2.1628 \cdot 10^{16}$	$3.1807 \cdot 10^{24}$
2.31	0.450	$1.8286 \cdot 10^{-9}$	$2.6797 \cdot 10^{6}$	$7.1808 \cdot 10^{12}$	$1.9242 \cdot 10^{19}$
3.12	0.585	$1.1805 \cdot 10^{-8}$	$6.4295 \cdot 10^{4}$	$4.1338 \cdot 10^{9}$	$2.6578 \cdot 10^{14}$
3.90	0.701	$7.1110 \cdot 10^{-8}$	$1.7719 \cdot 10^{3}$	$3.1397 \cdot 10^{6}$	$5.5632 \cdot 10^{9}$
4.52	0.796	$2.9667 \cdot 10^{-7}$	$1.0180 \cdot 10^{2}$	$1.0363 \cdot 10^{4}$	$1.0549 \cdot 10^{6}$
5.34	0.855	$1.9597 \cdot 10^{-6}$	$2.3321 \cdot 10^{0}$	$5.4384 \cdot 10^{0}$	$1.2683 \cdot 10^{1}$

$\log \beta_I = 8.21$; $\log \beta_{II} = 13.12$; $\log \beta_{III} = 15.36$

1.70	0.250	$4.5025 \cdot 10^{-10}$	$4.4198 \cdot 10^{7}$	$1.9534 \cdot 10^{15}$	$8.6337 \cdot 10^{22}$
2.24	0.365	$1.5583 \cdot 10^{-9}$	$3.6900 \cdot 10^{6}$	$1.3616 \cdot 10^{13}$	$5.0244 \cdot 10^{19}$
2.74	0.478	$4.9231 \cdot 10^{-9}$	$3.6969 \cdot 10^{5}$	$1.3667 \cdot 10^{11}$	$5.0525 \cdot 10^{16}$
3.70	0.657	$4.5025 \cdot 10^{-8}$	$4.4198 \cdot 10^{3}$	$1.9535 \cdot 10^{7}$	$8.6339 \cdot 10^{10}$
4.21	0.764	$1.4521 \cdot 10^{-7}$	$4.2489 \cdot 10^{2}$	$1.8053 \cdot 10^{5}$	$7.6707 \cdot 10^{7}$
4.78	0.845	$5.3967 \cdot 10^{-7}$	$3.0759 \cdot 10^{1}$	$9.4609 \cdot 10^{2}$	$2.9101 \cdot 10^{4}$

$\log \beta_I = 8.00$; $\log \beta_{II} = 13.46$; $\log \beta_{III} = 16.24$

Fortsetzung S.88

Tab.19, Fortsetzung

p-Amino-benzhydroxamsäure: $K_a = 9.33 \cdot 10^{-10}$, $c_A = 4 \cdot 10^{-3}$m, Extinktion bei 460 bzw. 440 nm.

pH	E	R	α	α^2	α^3
1.50	0.241	$1.1810 \cdot 10^{-10}$	$2.6757 \cdot 10^{8}$	$7.1592 \cdot 10^{16}$	$1.9156 \cdot 10^{25}$
2.24	0.430	$6.4904 \cdot 10^{-10}$	$8.8592 \cdot 10^{6}$	$7.8485 \cdot 10^{13}$	$6.9532 \cdot 10^{20}$
2.90	0.596	$2.9619 \cdot 10^{-9}$	$4.2540 \cdot 10^{5}$	$1.8097 \cdot 10^{11}$	$7.6984 \cdot 10^{16}$
3.69	0.752	$1.8294 \cdot 10^{-8}$	$1.1151 \cdot 10^{4}$	$1.2435 \cdot 10^{8}$	$1.3866 \cdot 10^{12}$
4.14	0.885	$5.1475 \cdot 10^{-8}$	$1.4084 \cdot 10^{3}$	$1.9837 \cdot 10^{6}$	$2.7940 \cdot 10^{9}$
4.92	1.012	$3.1098 \cdot 10^{-7}$	$3.8588 \cdot 10^{1}$	$1.4890 \cdot 10^{3}$	$5.7459 \cdot 10^{4}$

$\log \beta_I = 8.55$; $\log \beta_{II} = 14.35$; $\log \beta_{III} = 17.60$

1.75	0.256	$2.0966 \cdot 10^{-10}$	$8.4898 \cdot 10^{7}$	$7.2077 \cdot 10^{15}$	$6.1192 \cdot 10^{23}$
2.32	0.405	$7.7912 \cdot 10^{-10}$	$6.1479 \cdot 10^{6}$	$3.7797 \cdot 10^{13}$	$2.3237 \cdot 10^{20}$
2.65	0.480	$1.6661 \cdot 10^{-9}$	$1.3445 \cdot 10^{6}$	$1.8076 \cdot 10^{12}$	$2.4303 \cdot 10^{18}$
3.50	0.648	$1.1810 \cdot 10^{-8}$	$2.6757 \cdot 10^{4}$	$7.1592 \cdot 10^{8}$	$1.9156 \cdot 10^{13}$
3.98	0.785	$3.5543 \cdot 10^{-8}$	$2.9542 \cdot 10^{3}$	$8.7273 \cdot 10^{6}$	$2.5782 \cdot 10^{10}$
4.44	0.905	$1.0281 \cdot 10^{-7}$	$3.5309 \cdot 10^{2}$	$1.2467 \cdot 10^{5}$	$4.4020 \cdot 10^{7}$

$\log \beta_I = 8.20$; $\log \beta_{II} = 14.16$; $\log \beta_{III} = 17.66$

Nicotinhydroxamsäure: $K_a = 7.24 \cdot 10^{-9}$, $c_A = 6 \cdot 10^{-3}$m, Extinktion bei 460 bzw. 420 nm.

pH	E	R	α	α^2	α^3
1.90	0.329	$3.4476 \cdot 10^{-9}$	$3.6547 \cdot 10^{6}$	$1.3357 \cdot 10^{13}$	$4.8815 \cdot 10^{19}$
2.40	0.452	$1.0915 \cdot 10^{-8}$	$3.6465 \cdot 10^{5}$	$1.3297 \cdot 10^{11}$	$4.8489 \cdot 10^{16}$
3.14	0.585	$5.9999 \cdot 10^{-8}$	$1.2067 \cdot 10^{4}$	$1.4561 \cdot 10^{8}$	$1.7570 \cdot 10^{2}$
3.60	0.630	$1.7306 \cdot 10^{-7}$	$1.4503 \cdot 10^{3}$	$2.1035 \cdot 10^{6}$	$3.0508 \cdot 10^{9}$
4.25	0.705	$7.7285 \cdot 10^{-7}$	$7.2718 \cdot 10^{1}$	$5.2878 \cdot 10^{3}$	$3.8452 \cdot 10^{5}$
5.13	0.748	$5.8566 \cdot 10^{-6}$	$1.2652 \cdot 10^{0}$	$1.6008 \cdot 10^{0}$	$2.0254 \cdot 10^{0}$

$\log \beta_I = 6.98$; $\log \beta_{II} = 11.56$; $\log \beta_{III} = 13.68$

1.90	0.228	$3.4476 \cdot 10^{-9}$	$3.6547 \cdot 10^{6}$	$1.3357 \cdot 10^{13}$	$4.8815 \cdot 10^{19}$
2.25	0.309	$7.7295 \cdot 10^{-9}$	$7.2708 \cdot 10^{5}$	$5.2865 \cdot 10^{11}$	$3.8437 \cdot 10^{17}$
2.80	0.416	$2.7494 \cdot 10^{-8}$	$5.7468 \cdot 10^{4}$	$3.3026 \cdot 10^{9}$	$1.8979 \cdot 10^{14}$
3.90	0.630	$3.4474 \cdot 10^{-7}$	$3.6549 \cdot 10^{2}$	$1.3358 \cdot 10^{5}$	$4.8824 \cdot 10^{7}$
4.25	0.690	$7.7285 \cdot 10^{-7}$	$7.2718 \cdot 10^{1}$	$5.2878 \cdot 10^{3}$	$3.8452 \cdot 10^{5}$
4.46	0.718	$1.2516 \cdot 10^{-6}$	$2.7724 \cdot 10^{1}$	$7.6864 \cdot 10^{2}$	$2.1310 \cdot 10^{4}$

$\log \beta_I = 6.93$; $\log \beta_{II} = 11.42$; $\log \beta_{III} = 13.53$

Tab. 19, Fortsetzung

Acethydroxamsäure: $K_a = 4.27 \cdot 10^{-10}$, $C_A = 6 \cdot 10^{-3}$m, Extinktion bei 440 bzw. 420 nm.

pH	E	R	α	α^2	α^3
1.80	0.219	$1.6215 \cdot 10^{-10}$	$9.7440 \cdot 10^{7}$	$9.4945 \cdot 10^{15}$	$9.2514 \cdot 10^{23}$
2.36	0.298	$5.8762 \cdot 10^{-10}$	$7.4198 \cdot 10^{6}$	$5.5054 \cdot 10^{13}$	$4.0849 \cdot 10^{20}$
3.15	0.387	$3.6186 \cdot 10^{-9}$	$1.9565 \cdot 10^{5}$	$3.8280 \cdot 10^{10}$	$7.4897 \cdot 10^{15}$
3.72	0.438	$1.3484 \cdot 10^{-8}$	$1.4091 \cdot 10^{3}$	$1.9855 \cdot 10^{8}$	$2.7976 \cdot 10^{12}$
4.24	0.475	$4.4556 \cdot 10^{-8}$	$1.2905 \cdot 10^{3}$	$1.6654 \cdot 10^{6}$	$2.1492 \cdot 10^{9}$
4.85	0.510	$1.8170 \cdot 10^{-7}$	$7.7602 \cdot 10^{1}$	$6.0221 \cdot 10^{3}$	$4.6732 \cdot 10^{5}$

$\log \beta_I = 8.42$; $\log \beta_{II} = 13.94$; $\log \beta_{III} = 17.05$

1.56	0.149	$9.3164 \cdot 10^{-11}$	$2.9518 \cdot 10^{8}$	$8.7131 \cdot 10^{16}$	$2.5719 \cdot 10^{25}$
2.12	0.224	$3.3800 \cdot 10^{-10}$	$2.2426 \cdot 10^{7}$	$5.0294 \cdot 10^{14}$	$1.1279 \cdot 10^{22}$
2.98	0.322	$2.4400 \cdot 10^{-9}$	$4.3033 \cdot 10^{5}$	$1.8518 \cdot 10^{11}$	$7.9689 \cdot 10^{16}$
3.72	0.407	$1.3484 \cdot 10^{-8}$	$1.4091 \cdot 10^{4}$	$1.9855 \cdot 10^{8}$	$2.7976 \cdot 10^{12}$
4.47	0.492	$7.5574 \cdot 10^{-8}$	$4.4857 \cdot 10^{2}$	$2.0121 \cdot 10^{5}$	$9.0256 \cdot 10^{7}$
5.28	0.536	$4.8796 \cdot 10^{-7}$	$1.0759 \cdot 10^{1}$	$1.1576 \cdot 10^{2}$	$1.2454 \cdot 10^{3}$

$\log \beta_I = 8.74$; $\log \beta_{II} = 14.42$; $\log \beta_{III} = 17.35$

Benzhydroxamsäure: $K_a = 1.62 \cdot 10^{-9}$, $C_A = 6 \cdot 10^{-3}$m, Extinktion bei 460 bzw 420 nm.

pH	E	R	α	α^2	α^3
1.50	0.316	$3.0760 \cdot 10^{-10}$	$1.0273 \cdot 10^{8}$	$1.0554 \cdot 10^{16}$	$1.0842 \cdot 10^{24}$
2.00	0.423	$9.7200 \cdot 10^{-10}$	$1.0288 \cdot 10^{7}$	$1.0584 \cdot 10^{14}$	$1.0889 \cdot 10^{21}$
2.50	0.507	$3.0760 \cdot 10^{-9}$	$1.0273 \cdot 10^{6}$	$1.0554 \cdot 10^{12}$	$1.0842 \cdot 10^{18}$
3.12	0.590	$1.2806 \cdot 10^{-8}$	$5.9268 \cdot 10^{4}$	$3.5127 \cdot 10^{9}$	$2.0819 \cdot 10^{14}$
3.73	0.664	$5.2258 \cdot 10^{-8}$	$3.5593 \cdot 10^{3}$	$1.2669 \cdot 10^{7}$	$4.5091 \cdot 10^{10}$
4.32	0.738	$2.0292 \cdot 10^{-7}$	$2.3606 \cdot 10^{2}$	$5.5724 \cdot 10^{4}$	$1.3154 \cdot 10^{9}$

$\log \beta_I = 8.48$; $\log \beta_{II} = 14.52$; $\log \beta_{III} = 18.01$

1.50	0.200	$3.0760 \cdot 10^{-10}$	$1.0273 \cdot 10^{8}$	$1.0554 \cdot 10^{16}$	$1.0842 \cdot 10^{24}$
2.18	0.319	$1.4705 \cdot 10^{-9}$	$4.4951 \cdot 10^{6}$	$2.0206 \cdot 10^{13}$	$9.0826 \cdot 10^{19}$
2.50	0.361	$3.0760 \cdot 10^{-9}$	$1.0273 \cdot 10^{6}$	$1.0554 \cdot 10^{12}$	$1.0842 \cdot 10^{18}$
2.92	0.425	$8.1000 \cdot 10^{-9}$	$1.4815 \cdot 10^{5}$	$2.1948 \cdot 10^{10}$	$3.2516 \cdot 10^{15}$
3.49	0.539	$2.0000 \cdot 10^{-8}$	$1.0800 \cdot 10^{4}$	$1.1664 \cdot 10^{8}$	$1.2597 \cdot 10^{12}$
3.85	0.620	$6.8935 \cdot 10^{-8}$	$2.0454 \cdot 10^{3}$	$4.1836 \cdot 10^{6}$	$8.5572 \cdot 10^{9}$

$\log \beta_I = 8.28$; $\log \beta_{II} = 14.17$; $\log \beta_{III} = 18.17$

5) Kinetische Untersuchungen am System Trihydroxamato-eisen(III)/Transferrin

a) Darstellung der Hydroxamato-eisen(III)-Komplexe

Die Lösungen von 307.2 mg Anthranil- bzw. 276.2 mg Nicotinhydroxamsäure bzw. 29.9 mg Desferrioxamin B·HCl in je 10 ml Wasser wurden mit 8.1 bzw. 8.1 bzw. 20.2 mg $Fe(NO_3)_3 \cdot 9\ H_2O$ (Merck) versetzt. Dann wurde mit festem $NaHCO_3$ auf pH 7.4 eingestellt und mit $5 \cdot 10^{-3}$m Tris/HCl-Puffer (pH 7.4) auf 20 bzw. 20 bzw. 50 ml aufgefüllt. Die Endkonzentration an Komplex war danach jeweils $1 \cdot 10^{-3}$m (bez. auf Fe^{3+}); das Molverhältnis Fe:Ligand betrug 1:10 bzw. 1:100 bzw. 1:1.

b) Transferrin-Präparat

88 mg Transferrin (lyophilisiertes Präparat der Behringwerke, Marburg) in 5 ml $5 \cdot 10^{-3}$m Tris/HCl-Puffer vom pH 7.4 wurden zur Entfernung niedermolekularer Begleitstoffe gegen 50 ml desselben Puffers bei 20maligem Wechsel des Außenmediums in 24 Stdn. bei +3° dialysiert. Anschließend wurde es mit dem gleichen Puffer auf die Konzentration von $5 \cdot 10^{-5}$m gebracht.

c) Spektrophotometrische Verfolgung des Eisen-Austauschs

3 ml der Transferrin-Lösung ($5 \cdot 10^{-5}$m) wurden in eine Glasküvette (d = 1 cm) gefüllt, bei 30° thermostatisiert (Höppler-Umlaufthermostat) und dazu 0.3 ml der jeweiligen Komplex-Lösung ($1 \cdot 10^{-3}$m) unter gutem Vermischen gegeben. Der Eisen-Austausch mit dem Transferrin wurde durch Messung der Extinktion bei 470 nm in Abhängigkeit von der Zeit (Zeitabstände in Tab.20) verfolgt, wobei die Küvettenkammer des Zeiss-Spektralphotometers durch Wasserumlauf bei 30° gehalten wurde. Als Vergleichslösung diente $5 \cdot 10^{-3}$m Tris/HCl-Puffer (pH 7.4). Die Meßergebnisse enthält Tabelle 20.

Tabelle 20. Extinktionsänderung in Abhängigkeit von der Zeit beim System Hydroxamato-eisen(III)-Komplex/Transferrin in $NaHCO_3/CO_2$-Puffer vom pH 7.4

1) Trianthranilhydroxamato-eisen(III)/Transferrin

Molverhältnis Fe:Hydroxamsäure = 1:100

Zeit [Min.]	1.0	2.0	4.0	5.0	6.0	8.0	16.0	22.0	30.0
E_{470}	0.320	0.310	0.299	0.297	0.296	0.295	0.289	0.286	0.286

2) Trinicotinhydroxamato-eisen(III)/Transferrin

Molverhältnis Fe:Hydroxamsäure = 1:100

Zeit [Min.]	0.75	1.5	2.0	2.5	3.0	4.0	5.0
E_{470}	0.279	0.279	0.279	0.277	0.275	0.273	0.271

Zeit [Min.]	6.0	8.0	12.0	20.0	40.0	60.0
E_{470}	0.270	0.269	0.267	0.266	0.265	0.263

3) Ferrioxamin B/Transferrin

Molverhältnis Fe:Desferrioxamin B = 1:1

Zeit [Min.]	1.0	5.0	15.0	30.0	90.0	180	240	300	420
E_{470}	0.196	0.196	0.196	0.197	0.196	0.196	0.196	0.197	0.197

D. Untersuchung der Kupferkomplexe von Hydroxamsäuren

1) Bestimmung der Zusammensetzung

a) Lösliche 1:1-Komplexe

Glycinhydroxamsäure-Ligand (JOB-Methode[82]): Nach Vermischen der in Tabelle 21 angegebenen Volumina an 0.01m Cu(II)-acetat- und 0.01m Glycinhydroxamsäure-Lösung [ml(HsH)] füllte man mit 0.2m Acetat-Puffer vom pH 5.1 auf 25 ml auf. Die jeweilige Extinktion wurde bei 550 nm (d = 5 cm) bestimmt und gegen den zugehörigen Molenbruch x_{HsH} aufgetragen: Maximum bei $x_{HsH} = 0.5$, entsprechend der Komplexzusammensetzung 1:1.

Tabelle 21. Abhängigkeit der Extinktion des wäßrigen Systems Cu(II)-acetat/Glycinhydroxamsäure vom Molenbruch x_{HsH} bei pH 5.1 und λ = 550 nm

Schichtdicke d = 5 cm.

ml (HsH)	ml (Cu)	E_{550}	x_{HsH}
0	10	0.020	0.0
1	9	0.106	0.1
2	8	0.190	0.2
3	7	0.271	0.3
4	6	0.338	0.4
5	5	0.344	0.5
6	4	0.304	0.6
7	3	0.252	0.7
8	2	0.188	0.8
9	1	0.108	0.9

HsH = Glycinhydroxamsäure

$x_{HsH} = c_{HsH} / c_{HsH} + c_{Cu}$

Anthranilhydroxamsäure-Ligand (JONES-Methode[104]): Je 1 ml 0.01m Cu(II)-acetat wurde mit den in Tabelle 22 (S.92) angegebenen Volumina äquimolarer Anthranilhydroxamsäure-Lösung[ml(HsH)] vereinigt und mit 0.2m Acetat-Puffer (pH 5.0) auf 25 ml aufgefüllt. Die jeweilige Extinktion wurde bei 620 nm (d = 5 cm) bestimmt. War das Molverhältnis $c_{Cu}:c_{HsH} = 1:1$ erreicht, so änderte sich der Extinktionswert selbst bei 12fachem Überschuß an Ligand nur noch maximal um 0.006.

m-Amino- bzw. p-Aminobenzhydroxamsäure-Ligand (JOB-Methode[82]): Die in Tabelle 23 (S.92; a bzw. b) angegebenen Volumina (ml) wäßriger 0.01m Liganden-Lösung vermischte man mit den zugehörigen Volumina (ml) äquimolarer Cu(II)-acetat-Lösung, füllte mit 0.2m Acetat-Puffer (pH 5.4) bzw. 0.2m Natriumacetat (pH 7.3) auf 30 ml auf und bestimmte die Extinktion bei 440 bzw. 480 nm

(d = 5 cm). Die Eigenabsorption des Cu(II)-Ions war dabei zu vernachlässigen. Die Auftragung der Extinktionswerte gegen den zugehörigen Molenbruch x_{HsH} (vgl.Tab.21, S.91) ergab in beiden Fällen ein Maximum bei x_{HsH} = 0.5 (Tab.23).

Tabelle 22. Meßwerte zur Ermittlung der Komplexzusammensetzung beim System Cu^{2+}/Anthranilhydroxamsäure nach der Methode des molaren Verhältnisses

pH = 5.0, λ = 620 nm, d = 5 cm.

ml(HsH)	E_{620}	ml(HsH)	E_{620}	ml(HsH)	E_{620}
0.0	0.013	0.8	0.184	4.0	0.202
0.1	0.036	0.9	0.189	5.0	0.200
0.2	0.062	1.0	0.196	6.0	0.200
0.3	0.083	1.3	0.196	8.0	0.202
0.4	0.111	1.5	0.196	9.0	0.202
0.5	0.130	1.7	0.198	10.0	0.202
0.6	0.149	2.0	0.196	11.0	0.202
0.7	0.177	3.0	0.200	12.0	0.202

Tabelle 23. Abhängigkeit der Extinktion wäßriger Cu(II)-acetat-, m-Amino- bzw. p-Amino-benzhydroxamsäure-Lösungen vom Molenbruch x_{HsH}

a: HsH = m-Amino-benzhydroxamsäure b: HsH = p-Amino-benzhydroxamsäure

pH = 5.4, λ = 440 nm, d = 5 cm

ml(HsH)	ml(Cu)	E_{440}	x_{HsH}
0	10	0.006	0.0
1	9	0.058	0.1
2	8	0.103	0.2
3	7	0.146	0.3
4	6	0.179	0.4
5	5	0.193	0.5
6	4	0.183	0.6
7	3	0.157	0.7
8	2	0.117	0.8
9	1	0.069	0.9
10	0	0.014	1.0

pH = 7.3, λ = 450 nm, d = 5

ml(HsH)	ml(Cu)	E_{480}	x_{HsH}
0	10	0.008	0.0
1	9	0.063	0.1
2	8	0.120	0.2
3	7	0.156	0.3
4	6	0.199	0.4
5	5	0.266	0.5
6	4	0.199	0.6
7	3	0.162	0.7
8	2	0.121	0.8
9	1	0.073	0.9
10	0	0.024	1.0

b) Schwerlösliche 1:1-Komplexe

Hippur- bzw. Nicotinhydroxamsäure als Ligand (ASMUS-Methode[105]): Nach Vermischen der in Tab. 24 (S.93) angegebenen Volumina von 0.01m Cu(II)-acetat-Lösung mit wäßr. 0.01m Liganden-Lösung [ml(HsH)] wurde mit 0.2m Acetat-Puffer vom pH 5.0 auf 50 ml aufgefüllt. Die Lösungen wurden etwa 2 Stdn. stehengelassen, damit sich der grüne Komplex abschied. Der Niederschlag wurde abgesaugt (Filtertiegel, feinporig), mit Wasser salzfrei gewaschen, bis zur Gewichtskonstanz i.Vak. über P_4O_{10} getrocknet und gewogen. Wie aus Tab.24 hervorgeht, ist das Gewicht des Niederschlags bei Molenbruch x_{HsH} = 0.5 am größten, woraus die Komplexzusammensetzung 1:1 folgt (vgl. Abb.12, S.43).

Tabelle 24. Abhängigkeit des Gewichts an Kupfer(II)-Komplex beim System Cu(II)-acetat/Hippur- bzw. Nicotinhydroxamsäure vom Molenbruch x_{HsH} (vgl.Tab.21,S.91)

a: HsH = Hippurhydroxamsäure

ml(HsH)	ml(Cu)	Komplex [g]	x_{HsH}
2	18	0.0037	0.1
4	16	0.0098	0.2
6	14	0.0152	0.3
8	12	0.0183	0.4
10	10	0.0204	0.5
12	8	0.0186	0.6
14	6	0.0144	0.7
16	4	0.0090	0.8
18	2	0.0025	0.9

b: HsH = Nicotinhydroxamsäure

ml(HsH)	ml(Cu)	Komplex [g]	x_{HsH}
2	18	0.0049	0.1
4	16	0.0083	0.2
6	14	0.0108	0.3
8	12	0.0157	0.4
10	10	0.0165	0.5
12	8	0.0145	0.6
14	6	0.0112	0.7
16	4	0.0074	0.8
18	2	0.0030	0.9

Pyrrolidon-(5)-α-carboyl-hydroxamsäure-Ligand (ASMUS-Methode[103]): Die in Tab. 25 angegebenen Volumina 0.01m Pyrrolidon-(5)-α-carboyl-hydroxamsäure-Lösung [ml(HsH)] wurden mit den zugehörigen Volumina äquimolarer Cu(II)-acetat-Lösung versetzt und mit 0.2m Acetat-Puffer (pH 5.6) auf 100 ml aufgefüllt. Nach zweistündigem Stehenlassen hatte sich der Komplex abgesetzt und wurde, wie voranstehend beschrieben, weiterbehandelt. Beim Molenbruch x_{HsH} = 0.5 erreichte die Niederschlagsmenge ihr Maximum, was der Komplexzusammensetzung 1:1 entsprach.

Tabelle 25. Abhängigkeit des Komplexgewichts beim System Cu(II)-acetat/Pyrrolidon-(5)-α-carboyl-hydroxamsäure vom Molenbruch x_{HsH}

ml(HsH)	ml(Cu)	Komplex [g]	x_{HsH}
5	45	0.0082	0.1
10	40	0.0202	0.2
15	35	0.0318	0.3
20	30	0.0406	0.4
25	25	0.0467	0.5
30	20	0.0412	0.6
35	15	0.0304	0.7
40	10	0.0195	0.8
45	5	0.0070	0.9

c) 2:1-Komplexe

Glycinhydroxamsäure-Ligand (JONES-Methode[104]): Je 1.5 ml 0.01m Cu(II)-acetat-Lösung wurden mit den in Tab. 26 angegebenen Volumina an äquimolarer Glycinhydroxamsäure [ml(HsH)] versetzt und mit 0.1m Acetat-Puffer (pH 7.2) auf 25 ml aufgefüllt. Die Extinktion wurde bei 550 nm (d = 2 cm) gemessen. Wie aus Tab. 26 (S.94; vgl. auch Abb.9, S.41) hervorgeht, ändert sich die Extinktion beim Molverhältnis $c_{Cu}:c_{HsH}$ = 1:2 und darüber hinaus nicht mehr.

Tabelle 26. Abhängigkeit der Extinktion von der Konzentration an Glycinhydroxamsäure bei konstanter Cu^{2+}-Konzentration

pH = 7.1, λ = 550 nm, d = 2 cm.

ml(HsH)	E_{550}	ml(HsH)	E_{550}
0.0	0.005	4.0	0.093
0.5	0.024	4.5	0.092
1.0	0.040	5.0	0.092
1.5	0.055	5.5	0.092
2.0	0.068	6.0	0.092
2.5	0.080	6.5	0.092
3.0	0.090	7.0	0.093
3.5	0.091	7.5	0.092

Pyrrolidon-(5)-α-carboyl-hydroxamsäure-Ligand (JONES-Methode[104]): Zu je 2 ml 0.01m Cu(II)-sulfat pipettierte man die in Tab.27 angegebenen Volumina an 0.01m Pyrrolidon-(5)-α-carboyl-hydroxamsäure [ml(HsH)]. Nach Einstellen des pH-Wertes mit 0.1n NaOH auf 11.0 wurde auf 25 ml aufgefüllt und die Extinktion bei 570 nm (d = 1 cm) bestimmt. Die Extinktion änderte sich ab dem Molverhältnis $c_{Cu}:c_{HsH}$ = 1:2 nicht mehr.

Tabelle 27. Abhängigkeit der Extinktion von der Konzentration an Pyrrolidon-(5)-α-carboyl-hydroxamsäure bei konstanter Cu^{2+}-Konzentration

pH = 11.0, λ = 570 nm, d = 1 cm.

ml(HsH)	E_{570}	ml(HsH)	E_{570}
1	0.039	8	0.078
2	0.060	10	0.078
3	0.070	14	0.077
4	0.076	16	0.078
5	0.076	18	0.076
6	0.077		

m-Amino- bzw. p-Amino-benzhydroxamsäure als Liganden (JONES-Methode[104]): Die in Tab. 28 angegebenen Volumina an wäßriger, 0.01m m-Amino- bzw. p-Amino-benzhydroxamsäure [ml(HsH)] wurden mit je 2 ml 0.01m Cu-acetat-Lösung gemischt und auf 30 ml aufgefüllt, nachdem der pH-Wert mit 0.1n NaOH auf 11.1 eingestellt worden war. Die Extinktionen wurden bei λ = 580 und 520nm (d = 5 cm) bestimmt, da die Elektronenspektren zwei Maxima zeigen (vgl. z.B. Abb.18, S.48).

Beim System m-Amino-benzhydroxamsäure/Cu(II) ändern sich die Extinktionen bei λ_1 = 580 nm ab dem Molverhältnis $c_{Cu}:c_{HsH}$ = 1:2 nicht mehr, während die Extinktionen bei λ_2 = 520 nm bei größere Überschuß an Ligand noch etwas ansteigen, dann aber einem konsta ten Wert zustreben. Das System p-Amino-benzhydroxamsäure/Cu(II) zeigt etwa ab dem Molverhältnis $c_{Cu}:c_{HsH}$ = 1:2.5 keinen Extinktionsanstieg mehr. Wahrscheinlich wird ein Teil des Liganden (vi nyloger N-Hydroxy-harnstoff) im Alkalischen zerstört, was sich in einer Extinktionsabnahme bemerkbar macht, so daß der Wert 1:2

überschritten wird. Wird das Molverhältnis p-Amino-benzhydroxamsäure:Cu = 2:1 unterschritten, so fällt ein grüner Niederschlag (1:1-Komplex) aus, was ebenfalls für die Zusammensetzung 2:1 des löslichen, gelbgrünen Komplexes spricht.

Tabelle 28. Abhängigkeit der Extinktion von der Konzentration an m- bzw. p-Amino-benzhydroxamsäure bei konstanter Cu^{2+}-Konzentration

pH = 11.1, beidemal λ = 580nm und 520nm, d = 5 cm.

a: HsH = m-Amino-benzhydroxamsäure

ml(HsH)	E_{580}	E_{520}
1.0-3.0	Niederschlag	
4.0	0.139	0.143
6.0	0.139	0.146
8.0	0.139	0.150
12.0	0.139	0.153
16.0	0.142	0.157
18.0	0.139	0.157
20.0	0.136	0.151
22.0	0.141	0.156

b: HsH = p-Amino-benzhydroxamsäure

ml(HsH)	E_{580}	E_{520}
1.0-3.0	Niederschlag	
4.3	0.133	0.137
4.5	0.139	0.149
5.0	0.146	0.155
6.0	0.149	0.159
8.0	0.146	0.159
10.0	0.147	0.160
15.0	0.144	0.156

Nicotinhydroxamsäure-Ligand (JONES-Methode[104]): Je 2 ml einer 0.01m Cu(II)-acetat-Lösung vereinigte man mit den in Tab.29 angegebenen Volumina 0.01m Nicotinhydroxamsäure [ml(HsH)] und füllte auf 30 ml auf, nachdem der pH-Wert mit 0.1n NaOH auf 11.2 eingestellt worden war. Die Extinktion wurde, entsprechend dem zweibandigen Elektronenspektrum, bei 580 und 520 nm (d = 5 cm) gemessen. Ab der Zusammensetzung 2:1 wird die Extinktion innerhalb der Fehlergrenze (± 2.5%) konstant.

Tabelle 29. Abhängigkeit der Extinktion von der Konzentration an Nicotinhydroxamsäure bei konstanter Cu^{2+}-Konzentration

pH = 11.2, λ = 580 und 520 nm, d = 5 cm.

ml(HsH)	E_{580}	E_{520}
1-3	Niederschlag	
4	0.135	0.139
5	0.130	0.134
6	0.130	0.134
8	0.135	0.139
10	0.131	0.136
14	0.128	0.133
20	0.131	0.136

2) Darstellung schwerlöslicher Kupfer(II)-Komplexe

Aquo-hippurhydroxamato-kupfer(II).- Beim Vereinigen der Lösungen von 0.2 g (1.03 mMol) Hippurhydroxamsäure und 0.18 g (0.9 mMol) Cu(II)-acetat in je 20 ml Methanol fiel ein grüner Niederschlag aus. Er wurde abgesaugt, gründlich mit Methanol, dann mit

Wasser gewaschen und über P_4O_{10} getrocknet; Ausbeute 0.22 g(89%)

$CuC_9H_8N_2O_3 \cdot H_2O$	Ber.	C	39.3	H	3.67	N	10.2	Cu 23.3
(274.7)	Gef.		41.3		3.56		10.4	23.4*)

Hydroxo-[o-amino-benzhydroxamato]-kupfer(II).- Die Lösungen von 0.34 g (2.2 mMol) o-Amino-benzhydroxamsäure (Anthranilhydroxamsäure) und 0.2 g (1 mMol) Cu(II)-acetat in je 20 ml Wasser wurden vereinigt. Nach Zugabe von 2 ml Triäthylamin in 10 ml Methanol flockte ein dunkelbrauner, voluminöser Niederschlag aus. Er wurde abgesaugt, mit Wasser, dann mit Methanol gewaschen und über P_4O_{10} getrocknet; Ausbeute 0.14 g (60.5%).

$CuC_7H_7N_2O_2 \cdot OH$	Ber.	C	36.3	H	3.45	N	12.1	Cu 27.4
(231.7)	Gef.		36.7		2.87		12.1	24.7

Aquo-[m-amino-benzhydroxamato]-kupfer(II).- Beim Vereinigen der Lösungen von 0.2 g (1 mMol) Cu(II)-acetat und 0.16 g (1.05 mMol) m-Amino-benzhydroxamsäure in 20 ml Methanol fiel ein dunkelgrüner krist. Niederschlag aus, der sich bei Zugabe von 1 - 2 Tropfen Triäthylamin vermehrte. Nach dem Absaugen und Waschen mit wäßr. Methanol wurde über P_4O_{10} getrocknet; Ausbeute 0.18 g (78%).

$CuC_7H_6N_2O_2 \cdot H_2O$	Ber.	C	36.1	H	3.87	N	12.0	Cu 27.3
(231.7)	Gef.		39.1		3.43		11.3	26.3

3) pH-Titrationen

a) Glycinhydroxamsäure als Ligand

25 ml 0.01m wäßr. Cu(II)-sulfat und 50 ml wäßr. äquimolare Glycinhydroxamsäure (Ionenstärke durch Zugabe von $NaClO_4$ auf I = 0.1 gebracht) wurden vereinigt und mit 0.1n NaOH potentiometrisch titriert. Nach dem Zufügen von je 0.1 ml Lauge wurde der zugehörige pH-Wert gemessen. Die pH-Titrationskurve enthält Abb. 11(S.42).

b) Pyrrolidon-(5)-α-carboyl-hydroxamsäure als Ligand

25 ml 0.1m wäßr. Cu(II)-sulfat und 50 ml äquimolare wäßr. Lösung von Pyrrolidon-(5)-α-carboyl-hydroxamsäure (I = 0.1 mit $NaClO_4$) wurden vereinigt. Zum Auflösen des ausgeschiedenen Niederschlags wurde mit 4 ml 0.5n NaOH versetzt. Während der Titration mit 0.1n $HClO_4$ wurde N_2-Gas durch die Lösung geleitet, um CO_2-Absorption zu vermeiden. Nach Zugabe von jeweils 0.1 ml Säure wurde der zugehörige pH-Wert gemessen. Die pH-Titrationskurve enthält Abb.15 (S.45).

c) m-Amino-benzhydroxamsäure als Ligand

20 ml 0.01m wäßr. Cu(II)-sulfat und 40 ml 0.01m wäßr. m-Amino-benzhydroxamsäure (mit $NaClO_4$ auf I = 0.1 gebracht) wurden vereinigt und mit 0.1n NaOH titriert; Messung der pH-Werte wie voranstehend. Die pH-Titrationskurve zeigt Abbildung 19(S.49

*) Der Kupfer-Gehalt wurde hier und bei den folgenden Komplexen aus dem Rückstand (CuO) errechnet.

4) Reaktion von Kupfer(I)-Salzen mit Aminohydroxamsäuren

Als Kupfer(I)-Verbindung wurde die 0.01m Lösung des Komplexes aus Kupfer(I)-chlorid und CH_3CN in Acetonitril verwendet, wozu das CuCl nach HARDT[139] bereitet wurde.

Reaktion mit Glycinhydroxamsäure: Im Thunberg-Rohr wurden 9 ml 0.01m wäßr. Glycinhydroxamsäure (Hauptraum) und 3 ml 0.01m CuCl/CH_3CN in Acetonitril (Schenkel) nach Einleiten von N_2 und Evakuieren vermischt. Nach Auftreten der rotvioletten Farbreaktion wurde sofort das Elektronenspektrum im sichtbaren Spektralbereich (Lösung in 1-cm-Küvette unter Paraffinöl) aufgenommen. Gefunden wurde λ_{max} = 537 nm (pH = 6.9), auch nach Einleiten von Sauerstoff. Ein Vergleichsspektrum vom Gemisch äquimolarer Kupfer(II)-chlorid- und Glycinhydroxamsäure-Lösungen (Molverhältnis 1:3) ergab λ_{max} = 545 nm (pH = 6.1).

Beim Stehenlassen eines Parallelversuchs aus Glycinhydroxamsäure und CuCl/CH_3CN im Thunberg-Rohr schied sich langsam in wäßr. Lösung metallisches Kupfer ab.

Reaktion mit Desferrioxamin B: 3 ml der Lösung von 20 mg des Liganden·HCl in 5.10^{-3}m Trispuffer wurden wie voranstehend im evakuierten Thunberg-Rohr unter N_2 mit der Lösung von CuCl/CH_3CN in Acetonitril versetzt. Gefunden wurde λ_{max} = 635 nm (pH = 5.6) und aus dem Vergleichsspektrum mit Desferrioxamin B + wäßr. $CuCl_2$-Lösung (Molverhältnis 1:1) λ_{max} = 640 nm (pH = 5.3). Auch hier schied sich beim Stehenlassen ersterer Lösung nach und nach metallisches Kupfer ab.

E. Eisendonator-Wirkung von Hydroxamato-eisen(III)-Komplexen bei Ratten

1) Ausgangsverbindungen und ^{59}Fe-Markierung

Für die biologischen Untersuchungen wurden folgende Hydroxamsäuren verwendet: Hippur-, m- und p-Aminobenz-, Histidin-, Acet- und Benzhydroxamsäure (Darstellung S. 76 f.).

Das radioaktive Eisen lag als trägerfreies $^{59}FeCl_3$ (The Radiochemical Center, Amersham/England) in salzsaurer Lösung vor. Es wurde mit inaktivem Fe(III)-chlorid vor den Versuchen jeweils so gemischt, daß pro Ratte 0.5 bis 1.0 µC verabreicht werden konnten.

Zur Darstellung der 3:1-Komplexe wurden 10 µg (0.18 µMol) $FeCl_3$-[^{59}Fe] mit einem 20fachen molaren Überschuß der in physiologischer (0.9proz.) NaCl-Lösung gelösten Hydroxamsäuren versetzt. der pH-Wert wurde, falls erforderlich, mit 1n NaOH auf 6.2 bis 7.4 eingestellt, dann füllte man mit der physiologischen NaCl-Lösung auf ein Endvolumen von 15 ml auf.

2) Tiermaterial, Verabreichung der Komplexe und Aufarbeitung

Die Versuche wurden an weiblichen Wistar-Ratten (Gewichtsklasse 130 - 250 g) durchgeführt. Für jeden Versuch verwendete man

5 Tiere, so daß individuelle Verschiedenheiten des Eisenstoffwechsels ausgeglichen sein sollten. Jedem Tier wurde jeweils 1 ml der nach 1) bereiteten Komplex-Lösungen intravenös (Schwanzvene) injiziert (Zeitpunkt 0). Während der Versuchsdauer wurden die Ratten normal ernährt.

1 Stunde bzw. 7 Tage nach der Injektion wurden die Ratten mit Äther narkotisiert. Dann wurde die Haut bauchseits durch einen medianen Längsschnitt getrennt und der Brustraum eröffnet. Durch Punktion des freigelegten Herzens erhielt man 1 ml Blut. Ein Schnitt in die Vena cava führte zum Tod durch Verbluten. Das durch Punktion gewonnene Blut wurde mit 4 ml einer isotonischen NaCl-Lösung, die 1.6 mg PAS (Polyäthylen-sulfon=saures Natrium, Farbwerke Hoechst) enthielt, verdünnt. Durch Zentrifugieren trennte man in Serum und Blutzellen. Zur Messung der Radioaktivität (s.S.75) verwendete man 2 ml Serum; mittels des Hämatokrit-Wertes (Volumenanteil des Serums = 0.4) wurde die gefundene Aktivität auf 1 ml Blut umgerechnet. Die sedimentierten Erythrocyten wurden zweimal mit der isotonischen PAS/NaCl-Lösung gewaschen, abzentrifugiert und durch 1 ml dest. Wasser hämolysiert. Gemessen wurde die Radioaktivität des Hämolysates.- Zur Messung der Radioaktivität im Knochenmark wurde der linke Oberschenkelknochen (Femur), zur Untersuchung eines Eisenspeicherorgans die Leber herauspräpariert. Um zu kontrollieren, ob die Ratten nach 7 Tagen bereits Eisen ausgeschieden hatten, wurde von narkotisierten Versuchstieren die Gesamtaktivität gemessen (vgl.S.75).

3) Auswertung der Aktivitätsmessungen

Tabelle 30 enthält die ^{59}Fe-Aktivitäten der injizierten Eisen(III)-Komplex-[^{59}Fe]-Lösungen (Fe:Ligand = 1:20) nach 1 Stunde bzw. 7 Tagen als Bezugswerte.

Tabelle 30. Gesamtaktivität von 1 ml injizierter Lösung der Eisen(III)-Komplexe-[^{59}Fe] (Molverhältnis Ligand:Fe = 20:

Hydroxamato-Fe(III)-Komplex	Gesamtaktivität (Ipm.) nach 1 Stde.	7 Tagen
Kontrolle*)	185 300	168 100
m-Amino-benz-	187 700	169 300
p-Amino-benz-	193 100	175 800
Benz-	184 500	166 200
Hippur-	183 100	165 100
Acet-	194 000	175 300
Histidin-	193 900	177 300

*) Zur Kontrolle wurde $FeCl_3$-[^{59}Fe] in salzsaurer, wäßriger Lösung injiziert.

In den Tabellen 31a und 32a sind die gefundenen Aktivitäten von Blut, Leber und Femur 1 Stde. bzw. 7 Tage nach Verabreichung der Eisen(III)-Komplexe-[^{59}Fe] (Fe:Ligand = 1:20) an die Tiere enthalten. Die Meßwerte für die Leber sind korrigiert, d.h. die Aktivität des darin enthaltenen Blutes (1 ml) wurde abgezogen. biologischen Streuungen sind angegeben.

Tabelle 31

a) Gefundene Aktivitäten in Blut, Leber und Femur der Ratten 1 Stunde nach intravenöser Injektion von $FeCl_3$-[^{59}Fe] ohne und mit Hydroxamsäure

Molverhältnis Fe:Ligand = 1:20; Anzahl der Tiere: n = 5; Serum- und Erythrocyten-Werte bezogen auf 1 ml Blut.

Hydroxamato-Fe(III)-Komplex	pH	Wiedergefundene Aktivität (Ipm.) in Serum	Erythrocyten	Femur	Leber	Tier-Gewicht [g]
Kontrolle*)	2.0	4500±710	315±117	2720±300	15720±1240	214±5
m-Amino-benz-	6.4	5560±640	432±237	2790±600	10800±2100	214±19
p-Amino-benz-	6.2	5040±550	662±428	3330±920	13890±1150	215±20
Benz-	7.3	4010±1040	924±159	3310±370	10820±940	193±9
Hippur-	7.3	4390±1240	1164±570	3370±560	12810±1520	203±15
Acet-	6.3	5410±1660	357±367	2350±580	13960±4210	204±30
Histidin-	7.4	3280±1020	524±467	2610±810	8550 ±1040	170±16

*) Vgl.Fußnote bei Tabelle 30.

b) ^{59}Fe-Aktivitäten von Gesamtserum, Gesamterythrocyten und Gesamtskelett eines Tieres

Berechnet aus den unter a) aufgeführten Werten.

Hydroxamato-Fe(III)-Komplex	Impulse/Minute nach 1 Stunde in Gesamtserum	Gesamterythrocyten	Gesamtskelett
Kontrolle*)	57720±8920	4030±1450	38980±4310
m-Amino-benz-	71520±10870	5360±2600	39900±8520
p-Amino-benz-	65510±12970	8510±5490	47530±13110
Benz-	46470±12030	10690±1780	47300±5250
Hippur-	52720±12100	14436±8100	48240±7990
Acet-	64350±13690	3960±3420	33680±8300
Histidin-	33540±10410	5200±4280	37360±11560

*) Vgl. Fußnote bei Tabelle 30, S.98.

Tabelle 32

a) Gefundene Aktivitäten in Blut, Leber und Femur der Ratten 7 Tage nach intravenöser Injektion von $FeCl_3$-[^{59}Fe] ohne und mit Hydroxamsäure

Molverhältnis Fe:Ligand = 1:20; Anzahl der Tiere: n = 5 (3 bei p-Amino-benzhydroxamsäure); Serum- und Erythrocyten-Werte bezogen auf 1 ml Blut.

Hydroxamato-Fe(III)-Komplex	pH	Wiedergefundene Aktivität (Ipm.) in Serum	Erythrocyten	Femur	Leber	Tier-Gewicht [g]
Kontrolle*)	2.0	0.0	8216±1390	480±110	18600±4150	210±23
m-Amino-benz-	6.4	0.0	8692±459	410±80	14260±3290	200±6
p-Amino-benz-	6.2	0.0	8082±200	520±80	17030±3080	230±16
Benz-	7.3	0.0	8868±824	400±70	10380±4360	213±20
Hippur-	7.3	0.0	8164±1336	470±140	12720±3430	204±17
Acet-	6.3	0.0	6423±2054	500±80	26020±8960	227±9
Histidin-	7.4	0.0	7322±1431	520±110	13880±3290	199±29

*) Vgl. Fußnote bei Tabelle 30, S.98.

b) ^{59}Fe-Aktivitäten von Gesamtserum, Gesamterythrocyten und Gesamtskelett eines Tieres

Berechnet aus den unter a) aufgeführten Werten.

Hydroxamato-Fe(III)-Komplex	Impulse/Minute nach 7 Tagen in Gesamtserum	Gesamterythrocyten	Gesamtskelett
Kontrolle*)	0.0	102 340±10 790	6 850±1 530
m-Amino-benz-	0.0	104 460± 3 960	5 830±1 120
p-Amino-benz-	0.0	111 830±10 250	7 460±1 180
Benz-	0.0	114 000±16 720	5 750±1 040
Hippur-	0.0	99 660±12 920	6 720±2 060
Acet-	0.0	87 800±29 350	7 110±1 160
Histidin-	0.0	86 200±11 760	7 460±1 460

*) Vgl. Fußnote bei Tabelle 30, S.98.

Tabelle 33

Relative Verteilung von radioaktiv markiertem Eisen bei Anwesenheit von Hydroxamsäuren in Blut, Leber sowie Knochenmark der Ratten 1 Stunde bzw. 7 Tage nach intravenöser Verabreichung

Molverhältnis Fe:Ligand: = 1:100; die angegebenen Streuungen beziehen sich auf 5 Tiere.

Hydroxamato-Fe(III)-Komplex	pH	% des verabreichten ^{59}Fe wiedergefunden in Serum	Erythrocyten	Knochenmark	Leber	% ^{59}Fe-Retention gesamt
		a) 1 Stde. nach Verabreichung				
m-Amino-benz-	7.1	23.8±3.6	7.2±4.1	26.2±1.8	6.5±0.9	--
p-Amino-benz-	7.3	23.7±5.8	6.9±3.3	28.9±4.3	7.6±1.1	--
Benz-	7.5	27.5±4.3	6.2±3.0	23.0±3.9	7.2±0.9	--
Hippur-	7.2	29.1±6.1	4.0±2.6	25.1±7.6	6.2±1.4	--
Acet-	7.5	33.7±1.8	5.4±3.3	23.3±3.6	6.1±1.0	--
Histidin-	7.5	20.6±8.9	8.8±4.3	27.3±4.0	5.8±1.2	--
		b) 7 Tage nach Verabreichung				
m-Amino-benz-	7.1	0.0	55.9±7.4	4.4±0.8	9.7±2.2	99.2±3.1
p-Amino-benz-	7.3	0.0	59.8±3.8	7.6±0.9	6.4±1.5	102.0±1.8
Benz-	7.5	0.0	53.9±3.7	4.5±1.3	11.1±1.8	96.2±1.9
Hippur-	7.2	0.0	49.6±9.7	4.1±0.9	11.4±4.5	92.6±3.9
Acet-	7.5	0.0	47.8*)	4.6±0.8	13.3±3.0	98.5±4.2
Histidin-	7.5	0.0	65.0±10.3	4.6±0.8	8.8±2.3	99.0±3.1

*) Es standen die Erythrocyten von nur 2 Tieren zur Verfügung.

Multipliziert man die gefundenen Impulse des Serums bzw. der Erythrocyten von 1 ml Blut mit 6% des Körpergewichts, diejenigen des Femur mit 14.5, so erhält man die Aktivitäten (Ipm) in Gesamtserum bzw. Gesamterythrocyten bzw. Gesamtskelett eines Tieres. Diese Werte sind in den Tabellen 31b und 32 b enthalten (S.99 bzw. 100).

Die aus den entsprechenden Vergleichsversuchen beim Molverhältnis Fe:Ligand = 1:100 errechnete relative ^{59}Fe-Verteilung auf Blut, Leber und Knochenmark findet man in Tabelle 33 (S.101).

Die bei den Ganztier-Messungen 7 Tage nach Verabreichung der Fe(III)-Komplexe-[^{59}Fe] (Fe:Ligand = 1:20) gefundenen Aktivitäten sind in Tabelle 34 zusammengestellt.

Gesondert aufgeführt (Tab. 35 und 36, S.103 und 104) sind die Ergebnisse der biologischen Versuche mit dem System $FeCl_3$-[^{59}Fe]/Histidinhydroxamsäure, da hier die Abhängigkeit der Eisendonator-Wirkung vom Liganden-Überschuß und auch die Aktivitäten in weiteren Organen (Lunge, Milz, Niere) ermittelt wurden.

Tabelle 34

Ergebnisse der Ganztier-Messungen bei einer Versuchsdauer von 7 Tagen

Molverhältnis Fe:Ligand = 1:20; Anzahl der Tiere: n = 5.

Hydroxamato-Fe(III)-Komplex	Bezugsaktivität [Ipm.]	Wiedergefundene Aktivität [Ipm.]
Kontrolle*)	139 000	137 300 ± 1 600
m-Amino-benz-	135 500	131 650 ± 2 600
p-Amino-benz-**)	146 600	139 700 ± 2 200
Benz-	137 800	135 100 ± 4 200
Hippur-	136 300	132 600 ± 2 400
Acet-	137 100	138 800 ± 2 300
Histidin-	144 500	138 600 ± 3 500

*) Vgl. Fußnote bei Tabelle 30, S.98.

**) Meßwerte von nur 3 Tieren.

Tabelle 35

Verteilung von radioaktivem Eisen in Blut, Organen und Femur der Ratte nach intravenöser Injektion von $FeCl_3$-[^{59}Fe] ohne und mit Histidinhydroxamsäure bei verschiedenem Liganden-Überschuß

Anzahl der Tiere: n = 5.

Molverhältnis Ligand:Fe	pH	Tier-Gewicht [g]	Wiedergefundene ^{59}Fe-Aktivität (Ipm.) in (Aktivität enthaltenen Blutes abgezogen)**)								Bezugsaktivität [Ipm.] für Organe [Rest-Tiere]
			Serum	Erythrocyten	Femur	Leber	Lunge	Milz	Niere	Darm	Rest-Tier	
a) 1 Stde. nach Verabreichung												
Kontrolle*)	2.0	227 ±13	905 ±222	203 ±103	841 ±146	4 743 ±881	385 ±196	1742 ±726	654 ±180	2834 ±191	23 890 ±2 957	57 827 [45 370]
10:1	7.3	201 ±11	788 ±92	121 ±21	735 ±81	2 492 ±103	387 ±329	828 ±439	499 ±103	2942 ±466	27 757 ±2 169	55 476 [41 997]
50:1	7.5	220 ±8	709 ±144	182 ±107	901 ±177	3 150 ±425	284 ±90	1337 ±550	403 ±79	3057 ±336	26 697 ±1 096	55 634 [43 810]
100:1	7.5	215 ±23	894 ±187	229 ±100	894 ±159	3 127 ±196	344 ±182	1628 ±1260	352 ±95	3253 ±510	24 601 ±895	57 642 [42 928]
b) 7 Tage nach Verabreichung												
Kontrolle*)	2.0	223 ±39	0.0	2105 ±388	164 ±90	5 966 ±1 398	--	316 ±253	171 ±142	1261 ±140	13 292 ±525	52 018 [41 659]
10:1	7.3	242 ±10	0.0	1688 ±197	217 ±63	3 960 ±921	--	239 ±193	257 ±118	1092 ±138	16 106 ±1 213	50 946 [38 730]
50:1	7.5	241 ±20	0.0	1615 ±141	154 ±91	5 439 ±1 286	--	835 ±470	176 ±87	1292 ±156	15 155 ±465	50 234 [40 271]
100:1	7.5	240 ±22	0.0	2194 ±219	162 ±35	3 051 ±979	--	995 ±517	--	1200 ±76	12 238 ±1 705	52 538 [39 171]

*) Vgl. Fußnote bei Tab. 30, S. 98.- **) Die experimentell erhaltenen Mengen Restblut betrugen (ml): Lunge (0.4), Milz (0.3), Nieren (0.3).

Tabelle 36

^{59}Fe-Aktivität von Gesamtserum, Gesamterythrocyten und Gesamtskelett eines Tieres bei Histidinhydroxamsäure als Ligand (Berechnet aus den Werten der Tabelle 35, S.102).

Ligand:Fe	Gesamtserum	Impulse/Minute Gesamterythrocyten	Gesamtskelett
	a) 1 Stde. nach Verabreichung		
Kontrolle*)	12 225±2 741	2 781±1 517	12 024±2 090
10:1	9 499±1 124	1 458±281	10 516±1 152
50:1	9 360±2 053	2 357±1 315	12 890±2 527
100:1	11 500±2 523	2 934±1 252	12 781±2 279
	b) 7 Tage nach Verabreichung		
Kontrolle*)	0.0	27 572±2 517	2 342±1 285
10:1	0.0	24 423±1 977	3 106±901
50:1	0.0	23 351±3 384	2 196±1 300
100:1	0.0	31 553±3 599	2 311±500

*) Vgl. Fußnote bei Tab.30, S.98.

IV. LITERATURVERZEICHNIS

1) H.LOSSEN: Über die Oxalohydroxamsäure.
Liebigs Ann.Chem. 150,314(1869).

2) W.LOSSEN: Über Benzoylderivate des Hydroxylamins.
Liebigs Ann.Chem. 161,347(1872).

3) H.L.YALE: The Hydroxamic Acids.
Chem.Reviews 33,209(1943).

4) D.DUTCHER: Aspergillic Acid: An Antibiotic Substance Produced by Aspergillus flavus.I. General Properties; Formation of Desoxyaspergillic Acid; Structural Conclusions.
J.biol.Chemistry 171,321(1947).

5) J.D.DUTCHER: Aspergillic Acid: An Antibiotic Substance Produced by Aspergillus flavus.II. Bromination Reactions and Reduction with Sodium and Alcohol.
J.biol.Chemistry 171,341(1947).

6) D.M.REYNOLDS, A.SCHATZ und S.A.WAKSMAN: Grisein, a New Antibiotic Produced by a Strain of Streptomyces griseus.
Proc.Soc.exp.Biol.Med. 64,50(1947).

7) D.M.REYNOLDS und S.A.WAKSMAN: Grisein, an Antibiotic Produced by Certain Strains of Streptomyces griseus.
J.Bacteriol. 55,739(1948).

8) E.O.STAPLEY und R.E.ORMOND: Similarity of Albomycin and Grisein
Science [Washington] 125,587(1957).

9) F.GAUSE und M.G.BRAZHNIKOVA: Die Wirkung von Albomycin gegen Bakterien.
Novosti Med., Akad.Med.Nauk SSSR 23,3(1951)[zit.nach Lit.[11]].

10) H.BICKEL, E.GÄUMANN, W.KELLER-SCHIERLEIN, V.PRELOG, E.VISCHER, A.WETTSTEIN und H.ZÄHNER: Über eisenhaltige Wachstumsfaktoren, die Sideramine und ihre Antagonisten, die eisenhaltigen Antibiotica Sideromycine.
Experientia [Basel] 16,129(1960).

11) W.KELLER-SCHIERLEIN, V.PRELOG und H.ZÄHNER: Siderochrome (Natürliche Eisen(III)-trihydroxamat-Komplexe).
Fortschr.Chem.org.Naturstoffe [Wien] 22,279(1964).

12) M.O.BURTON, F.J.SOWDEN und A.G.LOCHHEAD: The Isolation and Nature of the Terregens Factor.
Canad.J.Biochem.Physiol.32,400(1954)[C.A.48,10839(1954)].

13) Übersicht bei: H.-J.BIELIG, H.MÖLLINGER und H.-D.DELL: Metall-Proteide und -Peptide.
In H.M.RAUEN: Biochemisches Taschenbuch, 2.Aufl., Teil 1, S.829, Springer-Verlag, Heidelberg 1964.

14) H.BICKEL, R.BOSSHARDT, E.GÄUMANN, P.REUSSER, E.VISCHER, W. VOSER, A.WETTSTEIN und H.ZÄHNER: Stoffwechselprodukte von Actinomyceten.26.Mitt.: Über die Isolierung und Charakterisierung der Ferrioxamine A - F, neuer Wuchsstoffe der Sideramin-Gruppe.
Helv.chim.Acta 43,2118(1960).

15) W.KELLER-SCHIERLEIN und V.PRELOG: Stoffwechselprodukte von Actinomyceten, 34.Mitt.: Ferrioxamin G.
Helv.chim.Acta 45,590(1962).

16) W.KELLER-SCHIERLEIN, P.MERTENS, V.PRELOG und A.WALSER: Stoffwechselprodukte von Mikroorganismen, 49.Mitt.: Die Ferrioxamine A_1, A_2 und D_2.
Helv.chim.Acta 48,710(1965).

17) H.BICKEL, G.E.HALL, W.KELLER-SCHIERLEIN, V.PRELOG, E.VISCHER und A.WETTSTEIN: Stoffwechselprodukte von Actinomyceten, 27.Mitt.: Über die Konstitution von Ferrioxamin B.
Helv.chim.Acta 43,2129(1960).

18) W.KELLER-SCHIERLEIN und V.PRELOG: Stoffwechselprodukte von Actinomyceten, 29.Mitt.: Die Konstitution des Ferrioxamins D_1.
Helv.chim.Acta 44,709(1961).

19) V.PRELOG und A.WALSER: Stoffwechselprodukte von Actinomyceten, 36.Mitt.: Über die Synthese der Ferrioxamine B und D.
Helv.chim.Acta 45,631(1962).

20) W.KELLER-SCHIERLEIN und V.PRELOG: Stoffwechselprodukte von Actinomyceten, 30.Mitt.: Über das Ferrioxamin E; ein Beitrag zur Konstitution des Nocardamins.
Helv.chim.Acta 44,1981(1961).

21) A.STOLL, A.BRACK und J.RENZ: Nocardamin, ein neues Antibioticum aus einer Nocardia-Art.
Schweiz. Z. allg. Path. Bakteriol. 14,225(1951).

22) V.PRELOG und A.WALSER: Stoffwechselprodukte von Actinomyceten, 38.Mitt.: Die Synthese des Ferrioxamins G.
Helv.chim.Acta 45,1732(1962).

23) T.EMERY und J.B.NEILANDS: Structure of the Ferrichrome Compounds.
J.Amer.chem.Soc. 83,1626(1961).

24) S.J.ROGERS, R.A.J.WARREN und J.B.NEILANDS: Amino-acid Sequences within the Ferrichrome Cyclic Hexapeptides.
Nature[London] 200,156(1963).

25) S.J.ROGERS und J.B.NEILANDS: Synthetic Experiments in the Ferrichrome Series.
Biochemistry 3,1850(1964).

26) W.KELLER-SCHIERLEIN und A.DEER: Stoffwechselprodukte von Mikroorganismen, 44.Mitt.: Zur Konstitution von Ferrichrysin und Ferricrocin.
Helv.chim.Acta 46,1907(1963).

27) W.KELLER-SCHIERLEIN: Stoffwechselprodukte von Mikroorganismen,45.Mitt.: Über die Konstitution von Ferrirubin, Ferrirhodin und Ferrichrom A.
Helv.chim.Acta 46,1920(1963).

28) A.ZALKIN, J.D.FORRESTER und D.H.TEMPLETON: Ferrichrome-A Tetrahydrate. Determination of Crystal and Molecular Structure.
J.Amer.chem.Soc.88,1810(1966).

29) H.DIEKMANN: Stoffwechselprodukte von Mikroorganismen. 56. Mitt.: Fusigen, ein neues Sideramin aus Pilzen.
Arch.Mikrobiol. 58,1(1967)[C.A.67,97956(1967)].

30) H.DIEKMANN und H.ZÄHNER: Konstitution von Fusigen und dessen Abbau zu Δ^2-Anhydromevalonsäurelacton.
Europ.J.Biochem. 3,213(1967).

31) H.HASKELL, R.H.BUNGE, J.C.FRENCH und Q.R.BARTZ: Succinimycin, a New Iron-Containing Antibiotic.
J.Antibiotics [Tokyo], Ser.A 16,67(1963)[C.A.59,13311(1963)].

32) H.BICKEL, P.MERTENS, V.PRELOG, J.SEIBL und A.WALSER: Stoffwechselprodukte von Mikroorganismen, 53.Mitt.: Über die Konstitution von Ferrimycin A_1.
Tetrahedron [London], Suppl. 8,171(1966).

33) H.BICKEL, E.HÄUSMANN, G.NUSSBERGER, P.REUSSER, E.VISCHER, W. VOSER, A.WETTSTEIN und H.ZÄHNER: Stoffwechselprodukte von Actinomyceten, 25.Mitt.: Über die Isolierung und Charakterisierung der Ferrimycine A_1 und A_2, neuer Antibiotika der Sideromycin-Gruppe.
Helv.chim.Acta 43,2105(1960).

34) J.TURKOVÁ, O.MIKEŠ und F.ŠORM: Isolation of the Biologically Active Component Albomycin in Pure Form and its Thermal Degradation.
[Antibiotiki] 7,878(1962)[C.A.61,5451(1964)].

35) J.TURKOVÁ, O.MIKEŠ und F.ŠORM: Determination of the Structure of the Peptide Moiety of the Antibiotic Albomycin.
Experientia[Basel] 19,633(1963).

36) J.TURKOVÁ, O.MIKEŠ und F.ŠORM: Chemical Composition of the Antibiotic Albomycin.VIII. Determination of the Sulfur Atom Bond in the Molecule of the Antibiotic Albomycin Collection.
Collect.czechoslov. Chem.Commun. 30,118(1965)[C.A.62,10508 (1965)].

37) J.B.NEILANDS: Some Aspects of Microbial Iron Metabolism.
Bacteriol.Rev. 21,101(1957).

38) T.EMERY: Isolation, Characterization, and Properties of Fusarinine, a Δ-Hydroxamic Acid Derivative of Ornithine.
Biochemistry 4,1410(1965)[C.A.63,4539(1965)].

39) J.M.SAYER und T.EMERY: Structures of the Naturally Occurring Hydroxamic Acids, Fusarinines A and B.
Biochemistry 7,184(1968).

40) J.FRANCIS, H.M.MACTURK, S.MADINAVEITIA und G.A.SNOW: Mycobactin, a Growth Factor for Mycobacterium johnei.1.Isolation from Mycobacterium phlei.
Biochem.J.55,596(1953).

41) G.A.SNOW: The Structure of Macobactin P, a Growth Factor for Mycobacterium johnei, and the Significance of its Iron Complex.
Biochem.J.94,160(1965).

42) G.A.SNOW: An Iron-Containing Growth Factor from Mycobacterium tuberculosis.
Biochem.J. 81, 4P (1961).

43) G.A.SNOW: Isolation and Structure of Mycobactin T, a Growth Factor from Mycobacterium tuberculosis.
Biochem.J. 97,166(1965).

44) J.D.DUTCHER: Aspergillic Acid: An Antibiotic Substance Produced by Aspergillus flavus. III. The Structure of Hydroxyaspergillic Acid.
J.biol.Chemistry 232,785(1958).

45) G.T.NEWBOLD, W.SHARPS und F.S.SPRING: Aspergillic Acid. Part III. The Synthesis of Racemic Deoxyaspergillic Acid.
J.chem.Soc.[London] 1951,2679.

46) A.J.KLUYVER, J.P.VAN DER WALT und A.J.TRIET: Pulcherrimin, the Pigment of Candida pulcherrima.
Proc.nat.Acad.Sci. USA 39,583(1953).

47) A.H.COOK und C.A.SLATER: The Structure of Pulcherrimin.
J.chem.Soc.[London] 1956,4133.

48) A.OHTA: Synthese von Pulcherrimin und Pulcherriminsäure.
Chem.pharmac.Bull.[Tokyo] 12,125(1964)[zit.nach Lit.[11])].

49) A.J.BIRCH, R.A.MASSY-WESTROPP und R.W.RICKARDS: Studies in Relation to Biosynthesis.Part VIII. The Structure of Mycelinamide.
J.chem.Soc.[London] 1956,3717.

50) R.B.BATES, J.H.SCHAUBLE und M.SOUČEK: The $C_{10}H_{17}$ Side Chain in Mycelinamide. The Stereochemistry of Bergamottin and Umbelliprenin.
Tetrahedron Letters [London] 1963,1683.

51) J.J.GORDON, B.K.KELLY und G.A.MILLER: Actinonin: An Antibiotic Substance Produced by an Actinomycete.
Nature[London] 195,701(1962).

52) W.D.OLLIS, A.J.EAST, J.J.GORDON und I.O.SUTHERLAND: The Constitution of Actinonin.
In: Chemistry of Microbial Products, Reprint of Symposium on Microbiology, Tokyo 1964, No.6, S.204[zit.nach Lit.[11])].

53) A.KACZKA, C.O.GITTERMANN, E.L.DILANEY und K.FOLKERS: Hadacin a New Growth-Inhibitory Substance in Human Tumor Systems.
Biochemistry 1, 340 (1962).

54) B.R.BYES, M.V.POWELL und C.E.LANKFORD: Iron-chelating Hydroxamic Acid (Schizokinen) Active in Initiation of Cell Division in Bacillus megaterium.
J.Bacteriol. 93,286(1967).

55) Ö.WAHLROOS und A.I.VIRTANEN: The Precursors of 6-Methoxybenzoxazolinone in Maize and Wheat Plants, Their Isolation and Some of Their Properties.
Acta chem.scand. 13,1906 (1959).

56) A.I.VIRTANEN und P.K.HIETALA: Precursors of Benzoxazolinone in Rye Plants,I. Precursor II, the Aglycone.
Acta chem.scand. 14,499(1960).

57) P.K.HIETALA und A.I.VIRTANEN: Precursors of Benzoxazolinone in Rye Plants,II. Precursor I, the Glucoside.
Acta chem.scand. 14,502(1960).

58) C.L.TIPTON, J.A.KLUN, R.R.HUSTED und M.D.PIERSON: Cyclic Hydroxamic Acids and Related Compounds from Maize. Isolation and Characterization.
Biochemistry 6,2866(1967).

59) G.R.GALE: Hydroxyurea Derivatives: Oxamylhydroxamic Acid.
Cancer Res. 26,2540(1966)[C.A.66,Nr.8974(1967)].

60) G.R.GALE: Hydroxyurea Derivatives: Acetoxyoxamide.
J.nat.Cancer Inst.38,51(1967)[C.A.66,Nr.54044(1967)].

61) G.R.GALE und A.B.SMITH: Effects of Certain Hydroxamic Acids on Virus Replication.
Experientia [Basel] 24,194(1968).

62) A.L.GREENS und J.D.NICHOLLS: The Reactivation of Phosphorylated Chymotrypsin.
Biochem.J.72,70(1959).

63) W.COHEN und B.F.ERLANGER: Studies on the Reactivation of Diethylphosphorylchymotrypsin.
J.Amer.chem.Soc. 82,3928(1960).

64) M.A.EPSTEIN und G.FREEMAN: Toxicity of Hydroxamic Acid Analogues; Prophylactic and Therapeutic Efficacy against Nerve Gas Poisoning in Mice.
Proc.Soc.exp.Biol.Med. 92,660(1956).

65) G.SCHWARZENBACH und K.SCHWARZENBACH: Hydroxamatkomplexe I.Die Stabilität der Eisen(III)-Komplexe einfacher Hydroxamsäuren und des Ferrioxamins B.
Helv.chim.Acta 46,1390(1963).

66) G.ANDEREGG, F.L'EPLATTENIER und G.SCHWARZENBACH: Hydroxamatkomplexe II. Die Anwendung der pH-Methode.
Helv.chim.Acta 46,1400(1963).

67) S.MÖSCHLIN: Erfahrungen mit Desferrioxamin bei pathologischen Eisenablagerungen.
Schweiz.med.Wschr. 92,1295(1962).

68) F.WÖHLER: Die Therapie der Hämochromatose.
Med.Klin. 57,1370(1962).

69) F.WÖHLER: Über Hydroxamsäure-Eisen-Komplexe.
Blut 15,358(1967).

70) W.FORTH, K.PFLEGER, G.ROHNS und W.RUMMEL: Der Einfluß von Komplexbildnern auf die Verteilung intravenös verabreichten Eisens im Organismus.
Tagungsber. der gemeinsamen Tagung der Dtsch.Ges.für Biophysik, Österr. Ges.für reine angew.Biophysik und Schweiz. Ges.für Strahlenbiologie, Wien, Sept.1964.

71) W.FORTH, K.PFLEGER, W.RUMMEL, E.SEIFEN, Sp.I.RICHMOND, H.WILBERT und H.ANDRES: Der Einfluß verschiedener Liganden auf Resorption, Verteilung und Ausscheidung von Eisen nach oraler Verabfolgung.
Naunyn-Schmiedebergs Arch.exp.Pathol.Pharmakol.252,242 (1965).

72) W.RUMMEL, W.FORTH und K.PFLEGER: Der Einfluß verschiedener Liganden auf die Eisenresorption.
In G.HOFMANN und B.DELALOYE: Radioisotope in der Gastroenterologie, Schattauer-Verlag, Stuttgart 1967,S.129.

73) W.FORTH, W.RUMMEL und K.PFLEGER: Der Einfluß von Liganden auf die Retention von Eisen nach oraler Veranfolgung an normale und anämische Ratten.
Naunyn-Schmiedebergs Arch.exp.Pathol.Pharmakol.261,225(1968).

74) F.MATHIS: Les acides hydroxamiques.
Bull.Soc.chim.France 1953,D 9.

75) H.-J.BIELIG und H.-D.DELL: Metallkomplexe von Aminohydroxamsäuren und verwandten Verbindungen.
Diplomarbeit H.-D.DELL, Univ.Freiburg i.Br. 1960.

76) B.G.MALMSTRÖM: Two Forms of Copper in Copper-Containing Oxidases.
In T.E.KING, H.S.MASON und M.MORRISON: Oxidases and Related Redox Systems, J.Wiley and Sons, Inc., New York 1965,S.207.

77) A.WERNER: Zur Theorie der Beizenfarbstoffe.
Ber.dtsch.chem.Ges.41,1062(1908).

78) R.F.WEINLAND und G.BAIER: Über Ferribenzhydroxamsäureverbindungen.
Ber.dtsch.chem.Ges.53,685(1920).

79) E.BAYER und K.-H.REUTHER: Analytische Verwendung von Eisen(III)-hydroxamsäurekomplexen,I.Mitt.
Chem.Ber.89,2541(1956).

80) W.B.HOWSMON JR.: A Study of the Formation of Iron(III) Hydroxamic Acid Chelates.
Univ.Microfilms Inc.,Ann Arbor, Michigan 1955, Dissertation Abstr.15,2006(1955)[C.A.50,2349(1956)].

81) H.-J.BIELIG und G.ROHNS: Untersuchungen über Bau und Funktion einiger Eisen-enthaltender organischer Naturstoffe.
Dissertation G.ROHNS, Univ.des Saarlandes,Saarbrücken 1965.

82) P.JOB: Untersuchungen über die Bildung anorganischer Komplexe und über ihre Stabilität.
Ann.Chimie[10]9,113(1928).

83) H.-J.BIELIG und W.MENNICKE: Stabilität und biologisches Verhalten von Aminohydroxamsäure-eisen(III)-Komplexen.
Diplomarbeit W.H.MENNICKE, Univ.des Saarlandes,Saarbrücken 1966.

84) E.ASMUS, U.HINZ, K.OHLS und W.RICHLY: Eine neue Methode zur Ermittlung der Zusammensetzung schwacher Komplexe.
Z.analyt.Chem. 178,104(1960).

85) L.VAREILLE: Complexes ferriphénoliques.I. Méthode des points isobestiques.
Bull.Soc.chim.France 1955,870.

86) L.VAREILLE: Complexes ferriphénoliques.II. Complexes ferrisulfosalicyliques.
Bull.Soc.chim.France 1955,872.

87) B.N.MATTOO: Stability of Metal Complexes in Solution.I. A Spectrophotometric Study, and its Application to Ferric-Sulphosalicylic Acid Complexes.
Z.physik.Chem.[Frankfurt] 13,316(1957).

88) H.FROMHERZ: Physikalisch-chemisches Rechnen in Wissenschaft und Technik, 2.Aufl., S.183, Verlag Chemie, Weinheim 1960.

89) G.SCHWARZENBACH, A.WILLI und R.O.BACH: Komplexone IV. Die Acidität und die Erdalkalikomplexe der Anilindiessigsäure und ihrer Substitutionsprodukte.
Helv.chim.Acta 30,1303(1947).

90) A.L.GREEN, G.L.SAINSBURY, B.SAVILLE und M.STANSFIELD: The Reactivity of Some Active Nucleophilic Reagents with Organophosphorus Anticholinesterases.
J.chem.Soc.[London] 1958,1583.

91) M.A.STOLBERG und W.A.MOSHER: Rates of Reaction of Vicinally Substituted Hydroxamic Acids with Isopropyl Methylphosphonofluoridate (Sarin).
J.Amer.chem.Soc.79,2618(1957).

92) D.E.HACKLEY JR., E.PLAPINGER, M.A.STOLBERG und TH.WAGNER-JAUREGG: Accelerations of the Hydrolysis of Organic Fluorophosphates and Fluorophosphonates with Hydroxamic Acids.
J.Amer.chem.Soc.77,3651(1965).

93) V.CIELESZKY, A.DÉNES und E.SÁNDI: Polarographische Untersuchungen über das Kupfer- und Eisenaustauschverhältnis in Hydroxamsäurekomplexen und dessen biologische Bedeutung. Acta chim.Acad.Sci.hung. 9,381(1956).

94) J.SCHUBERT: The Chemical Basis of Chelation. In F.GROSS: Iron Metabolism (An International Symposion), Springer-Verlag, Berlin 1964, S.466.

95) E.RABINOWITSCH und W.H.STOCKMAYER: Association of Ferric Ions with Chloride, Bromide and Hydroxyl Ions (A Spectroscopic Study). J.Amer.chem.Soc.64,335(1942).

96) G.POPA, C.LUCA und E.JOSIF: UV-spektrophotometrisches Studium der Hydrolyse der Eisen(III)-Ionen in Wasser und in Wasser-Methanol-Lösung. Z.physik.Chem. [Leipzig] 222,49(1963).

97) G.W.BATES, C.BILLUPS und P.SALTMAN: The Kinetics and Mechanism of Iron(III) Exchange Between Chelates and Transferrin. I. The Complexes of Citrate and Nitrilotriacetic Acid. J.biol.Chemistry 242,2810 (1967).

98) R.AASA, B.G.MALMSTRÖM, P.SALTMAN und T.VÄNNGÅRD: The Specific Binding of Iron(III) and Copper(II) to Transferrin and Conalbumin. Biochim.biophysica Acta [Amsterdam] 75,203(1963).

99) A.L.SCHADE, R.W.REINHART und H.LEVY: Carbon Dioxide and Oxygen in Complex Formation with Iron and Siderophilin, the Iron-binding Component of Human Plasma. Arch.Biochem. Biophysics 20,170(1949).

100) E.BAYER und R.GLADEN: Untersuchungen über die Struktur des Eisentransferrins. Dissertation R.GLADEN, Univ.Tübingen 1967.

101) H.LEY und F.MÄNNCHEN: Über Salz- und Komplexsalz-Bildung bei Amino- und Oxy-acethydroximsäure. Ber.dtsch.chem.Ges. 46, 751 (1913).

102) TH.WIELAND und H.FRITZ: Stufenweiser Abbau von Peptiden mit Hilfe der Lossenschen Reaktion. Chem.Ber.86,1186(1953).

103) A.MIOLATI: Über eine neue Bildungsweise der Hydroxamsäuren der Fettreihe. Ber.dtsch.chem.Ges. 25,699(1892).

104) J.H.YOE und A.L.JONES: Colorimetric Determination of Iron with Disodium-1.2-dihydroxybenzene-3.5-disulfonate. Ind. Engng.Chem. analyt.Edit. 16,111(1944)

105) E.ASMUS, W.GRIMMICH, K.OHLS, H.-J.ROTHE und D.ZIESCHE: Ermittlung der Zusammensetzung von Niederschlägen nach der Methode der kontinuierlichen Variationen. Z.analyt.Chem. 210,401(1965).

106) H.L.SCHLÄFER und G.GLIEMANN: Einführung in die Ligandenfeldtheorie, Akad.Verlagsges. Geest & Portig KG, Leipzig 1967, S.82.

107) M.R.F.ASHWORTH und I.VENN: Beiträge zur quantitativen Bestimmung von Nitrilen. Diplomarbeit I.VENN, Univ.des Saarlandes,Saarbrücken 1966, S.24, 32A.

108) L.G.SILLÉN und A.E.MARTELL: Stability Constants of Metal-Ion Complexes.
The Chem.Society, London 1964, Special Publ.No.17.

109) J.J.LINGANE: Interpretation of the Polarographic Waves of Complex Metal Ions.
Chem.Reviews 29,1(1941).

110) A.ALBERT und C.W.REES: Avidity of the Tetracyclines for the Cations of Metals.
Nature[London] 177,433(1956).

111) R.C.WARNER und I.WEBER: The Cupric and Ferric Citrate Complexes.
J.Amer.chem.Soc. 75,5086(1953).

112) G.SCHWARZENBACH und J.HELLER: Komplexone XVIII. Die Eisen(II)- und Eisen(III)-komplexe der Äthylendiamin-tetraessigsäure und ihr Redoxgleichgewicht.
Helv.chim.Acta 34,576(1951).

113) J.BADOZ-LAMBLING: Complexes of Ferric Ion.
Ann.Chimie [12] 8,586(1953)[C.A.48,10474(1954)].

114) C.A.ARMOUR und D.E.RYAN: N-Acyl Substituted Phenylhydroxylamines: The Effect of Radical Change on Analytical Behavior.
Canad.J.Chem. 35,1454(1957).

115) D.MONNIER und C.JEGGE: Quelques propriétés analytiques de l'acide oxaldihydroxamique.
Helv.chim.Acta 40,513(1957).

116) D.D.PERRIN: Complex Formation Between Ferric Ion and Glycine.
J.chem.Soc.[London] 1958,3120.

117) D.D.PERRIN: The Stability Complexes of Ferric Ion and Amino Acids.
J.chem.Soc.[London] 1958,3125.

118) Vgl.Lit.[106], dort S.186.

119) G.SCHWARZENBACH und J.HELLER: Komplexone XXI. Die Eisenkomplexe der Nitrilo-triessigsäure.
Helv.chim.Acta 34,1889(1951).

120) G.W.BATES, C.BILLUPS und P.SALTMAN: The Kinetics and Mechanism of Iron(III) Exchange Between Chelates and Transferrin.II. The Presentation and Removal with Ethylenediaminetetraacetate.
J.biol.Chemistry 242,2816(1967).

121) C.BILLUPS, L.PAPE und P.SALTMAN: The Kinetics and Mechanism of Iron(III) Exchange Between Chelates and Transferrin. III. Amount of Iron-Ethylenediaminetetraacetate Initially Bound to Protein.
J.biol.Chemistry 242,4384(1967).

122) W.FORTH, unveröffentlicht.

123) G.ANDEREGG, F.L'EPLATTENIER und G.SCHWARZENBACH: Hydroxamatkomplexe III. Eisen(III)-Austausch zwischen Sideraminen und Komplexonen. Diskussion der Bildungskonstanten der Hydroxamatkomplexe.
Helv.chim.Acta 46,1409(1963).

124) G.MORPURGO und R.J.P.WILLIAMS: The State of Copper in Biological Systems.
In F.GHIRETTI, Physiology and Biochemistry of Haemocyanins, Academic Press, London 1968,S.113.

125) W.A.ROMBAUTS: The Interaction of Thiourea and Thiocyanate Ion with the Oxygen Carrying Copper Groups of Haemocyanin.
Vgl.Lit.[124], dort S.75.

126) H.DOBBIE und W.C.KERMACK: Complex-Formation Between Polypeptides and Metals.3. The Reaction Between Cupric Ions and Diglycylglycine.
Biochem.J.59,257(1955).

127) H.BRINTZINGER: Die Wechselwirkung von Polymyxin B mit zweiwertigen Kationen in wäßriger Lösung.
Helv.chim.Acta 44,744(1961).

128) R.GRIESSER und S.FALLAB: Kupferkomplexe von Bisamiden.II. Struktur und Stabilität von binuklearen Komplexen in wäßriger Lösung.
Chimia [Aarau,Schweiz] 22,90(1968).

129) TH.KADEN und A.ZUBERBÜHLER: Kupferkomplexe von Bisamiden. III. Oxamidsäurederivate als dreizähnige Liganden.
Helv.chim.Acta 51,1797(1968).

130) A.ZUBERBÜHLER und TH.KADEN: Kupferkomplexe von Bisamiden. IV. UV-Banden binuclearer Koordinationsverbindungen ohne Cu-Cu-Bindung.
Helv.chim.Acta 51,1805(1968).

131) T.SATO, M.SHIRO und H.KOYAMA: Metal Complexes of Thiohydroxamic Acids.Part I. Crystal Structure of Bis[thioacetohydroxamato]nickel(II).
J.chem.Soc.[London] 1968,989.

132) Vgl.Lit.[106], dort S.37.

133) H.HARTMANN, H.L.SCHLÄFER und K.H.HANSEN: Farbe und Konstitution von Komplexverbindungen.VIII. Zur Lichtabsorption komplexer Ionen des dreiwertigen Titans.
Z.anorg.allg.Chem. 284,153(1956).

134) L.W.JONES und M.C.SNEED: On Dichloroacethydroxamic Acid and its Rearrangement and Aminoacethydroxamic Acid.
J.Amer.chem.Soc. 39,668(1917).

135) C.R.HAUSER und W.B.RENFROW: Org.Syntheses, Coll.Vol.II, 67 (1950).

136) M.A.STOLBERG, W.A.MOSHER und TH.WAGNER-JAUREGG: Synthesis of a Series of Vicinally Substituted Hydroxamic Acids.
J.Amer.chem.Soc.79,2615(1957).

137) K.G.CUNNINGHAM, G.T.NEWBOLD, F.S.SPRING und J.STARK: Hydroxamic Acids,Part II. The Synthesis and Structure of Cyclic Hydroxamic Acids from Pyridine and Quinoline.
J.chem.Soc.[London] 1949,2091.

138) R.E.PLAPINGER: Ultraviolet Absorption Spectra of Some Hydroxamic Acids and Hydroxamic Acid Derivatives.
J.org.Chemistry 24,802(1959).

139) H.-D.HARDT: Wasserfreie Kupferhalogenide durch Fällung.
Z.anorg.allg.Chem.301,95(1959).

Lebenslauf

Am 24.Dezember 1939 wurde ich in Bad Kreuznach als ältester Sohn des kaufm. Angestellten Herbert Mennicke und seiner Ehefrau Gertrude, geb. Petri, geboren.

Nach Besuch der Volksschule in Völklingen-Fürstenhausen von 1946 bis 1950 wechselte ich an das Staatliche Realgymnasium in Völklingen und legte dort im Februar 1959 die Reifeprüfung ab.

Im Sommersemester 1959 begann ich das Studium der Chemie an der Universität des Saarlandes in Saarbrücken, wo ich im Oktober 1961 das Diplom-Vorexamen ablegte und am 31.März 1965 das Diplom in Chemie erlangte.